Mikrokinematographische Studie an lebenden malignen Zellen des weiblichen Genitales in vitro

Synzytiale Strukturen im Ascites eines Ovarial-Carcinoms, Peri- und Emperipolesis und sezernierende Zellen eines medullären Ovarial-Carcinoms mit myxomatösem Stroma.

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Sigmund Figiel

Saarbrücken

1970

Druck:
Universitätsbibliothek Saarbrücken

Aus der geburtshilflich-gynäkologischen

Abteilung des St. Martinus-Krankenhauses

Düsseldorf

Chefarzt: Professor Dr. med. M. K r a h e

MIKROKINEMATOGRAPHISCHE STUDIE AN LEBENDEN MALIGNEN ZELLEN DES WEIBLICHEN GENITALES IN VITRO

Synzytiale Strukturen im Ascites eines Ovarial-Carcinoms, Peri- und Emperipolesis und sezernierende Zellen eines medullären Ovarial-Carcinoms mit myxomatösem Stroma.

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1970

vorgelegt von

SIGMUND FIGIEL

geb. am 27. 2. 1925 in Myslowitz (Oberschlesien)

Dekan: Prof. Dr. med. G. D h o m

Referent: Prof. Dr. med. M. K r a h e

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promotionsdatum: 16. Dezember 1970

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
I.	Einleitung	2
II.	Methodik	4
III.	Mikrokinematographische Einrichtung	10
IV.	Experimenteller Teil	
	1. Beobachtungen amöboider Zellen in soliden malignen Tumoren und im Ascites weiblicher menschlicher Genitaltumoren	16
	2. Über amöboide Zellen in soliden Tumoren, die Peri- und Emperipolesis	40
	3. Beobachtung der Sekretion des myxomatösen Materials in einem medullären Ovarial-Carcinom mit myxomatösem Stroma	45
V.	Zusammenfassung	54
VI.	Literaturverzeichnis	57

1. Einleitung

Viele medizinische und naturwissenschaftliche Disziplinen bemühen sich darum, spezifische Unterscheidungsmerkmale zwischen Krebszellen und normalen Zellen zu erarbeiten.
Die hoffnungsvollen Bemühungen der Biochemiker haben zu keinen eindeutigen für alle Krebsarten gültigen Besonderheiten des Stoffwechsels geführt. Bis jetzt ist man sich lediglich über das Vorhandensein der aeroben und verstärkten anaeroben Glykolyse einig geworden. Für eine gezielte Therapie müssen spezifische Reaktionen für alle Krebszellen gefunden werden.
Als Beispiel darf in diesem Zusammenhang die Asparaginase angeführt werden. Die Entwicklung und Einführung der Asparaginase sind verbunden mit den Namen KIDD (1), De BARROS et al. (2), BROOME (3).
Sie ist ein Ferment, das aus dem Bacterium coli zubereitet wird. Normale Zellen können die Aminosäure Asparagin selbst aufbauen. Bestimmte Leukämieformen sind dazu nicht in der Lage. Wenn man den Leukämiepatienten Asparaginase gibt, wird das Asparagin, das exogen z. B. mit der Nahrung an die Leukämiezellen herangeführt wird, abgebaut, so daß diese Zellen praktisch ausgehungert werden.
Die eigenen Untersuchungen haben zum Ziele, allgemeingültige besondere Reaktionen für alle Krebszellen aufzudecken mit Hilfe des Gewebe- oder Zellkulturverfahrens. Schon im Jahre 1898 veröffentlichte man gewebezüchterische Arbeiten. Während man in der Anfangszeit noch vorwiegend mit Primärexplantaten menschlicher Carcinome arbeitete, ging man später auf die Anwendung

permanenter Zellstämme über. Diese aber haben oft nach einigen Wochen ihren primären Charakter sowohl in biochemischer als auch in chromosomaler Hinsicht verloren. Heute nach über 70 Jahren werden ähnliche Untersuchungen an Primärexplantaten menschlicher Carcinome aufgenommen. Diese finden ihre Berechtigung in der Anwendung des Trypsinierungsverfahrens nach DULBECCO und VOGT (4), indem sich Krebseinzelzellen in freier Bewegung in ihrem Phänotypus und ihrem funktionellen Verhalten unter Berücksichtigung der gleichzeitig auftretenden morphologischen Veränderungen beobachten lassen. Auch die Fortentwicklung der Mikroskopierverfahren bietet mit der Einführung des umgekehrten Mikroskopes neue Möglichkeiten für die Beobachtung lebender Zellen. Mit Hilfe des umgekehrten Mikroskopes gelingt es leichter, den Mitoseablauf zu verfolgen und darüberhinaus die amöboiden Zellen und Bewegungsvorgänge in den Zellen selbst genauer zu dokumentieren. In der vorliegenden Studie schenkte man deshalb den amöboiden Zellen im Ascites und auch in soliden Tumoren besondere Aufmerksamkeit. Hinsichtlich der Beobachtung spezifischer Zellfunktionen waren Ovarialcarcinomzellen mit Pseudomucinbildung Gegenstand dieser Untersuchungen. Die rasche Vermehrung der Ascitescarcinomzellen, die aus tierexperimentellen Ergebnissen und von der klinischen Erfahrung her ausreichend bekannt ist, veranlaßte die mikrokinematographische Untersuchung dieser Vorgänge. Dementsprechend wird die vorliegende Arbeit in drei Abschnitte eingeteilt:

1. Beobachtungen amöboider Zellen in soliden malignen Tumoren und im Ascites weiblicher menschlicher Genitaltumoren.
2. Über amöboide Zellen in soliden Tumoren, die Peri- und Emperipolesis.

3. Beobachtung der Sekretion des myxomatösen Materials in einem medullären Ovarial Carcinom mit myxomatösem Stroma.

II. Methodik

a) Ansetzen von Primärkulturen solider maligner Tumoren des weiblichen Genitales.

Frisch entnommenes Operationsmaterial wird in phosphatgepufferter Salzlösung mit Penicillin- und Streptomycinzusatz (Abb. 1) aufgefangen. Mit Hilfe von sterilen Mulltupfern oder kleinen Scheren entfernt man Blutkoagula und nekrotische Anteile vom Gewebe. Nach zweimaliger Waschung des Materials in neuer Salzlösung erfolgt die Trypsinierung des Gewebsmaterials in Anlehnung an das Verfahren nach DULBECCO und VOGT (4) in Einzelzellen.
Infiziertes Gewebe wird vor dem Trypsinieren für einige Stunden bei 4 - 5 °C in phosphatgepufferter Salzlösung mit 4-fach konzentriertem Penicillin-Streptomycin-Zusatz belassen, um die Bakterien abzutöten, so daß die weitere Verarbeitung wie oben beschrieben angewendet werden kann.
Die Reservierung eines soliden Stückchens vom gleichen Tumor dient der histologischen Untersuchung, um eine eindeutige Diagnose über die Art des Tumors zu besitzen. Der größere Tumoranteil läßt sich durch Zerkleinerung mit feinen gebogenen Scheren in einen Gewebsbrei in einem kleinen Becherglas verwandeln.
Um Einzelzellen aus diesen Gewebsfragmenten zu erhalten, bedient man sich der fermentativen Aufspaltung durch eine Trypsinlösung.

Je nach der Konsistenz des zu explantierenden Gewebes wird eine 0,25 - 2%ige Lösung verwandt, bei weichem, markigem Gewebe 0,25 %, bei festem Gewebe bis zu 2 %.
Die Trypsinierung erfolgt im Brutschrank bei 37 °C auf einem Magnetrührer, der das Verfahren beschleunigt. Nach Zeitintervallen von 15 bis 20 min ist die Trypsinlösung so stark mit Einzelzellen angereichert, daß sie nach dem Abgießen in einem Eisbad zur Inaktivierung des Trypsins aufzubewahren ist. Der zurückbleibende Gewebsbrei erhält so lange neuen Trypsinzusatz, bis das Material völlig in Einzelzellen zerlegt ist. Die Dauer der Trypsinierung differiert je nach der Konsistenz des Ausgangsgewebes.
Im Anschluß daran filtriert man die Trypsin-Zell-Suspension durch ein steriles Mullfilter, um ausschließlich Einzelzellen für die Explantation zu gewinnen. Das Filtrat wird auf sterile Zentrifugengläser verteilt und 10 min bei 3000 rpm zentrifugiert.
Zur vollständigen Eliminierung des Trypsins bedürfen die Zellen der zweimaligen Waschung mit einer phosphatgepufferten Salzlösung.
Nach Zentrifugierung bei 3000 rpm 10 min lang resuspendiert man das Sediment in einem Nährmedium. (Abb. 2)
Die Zellkonzentration liegt bei 350 000 Zellen/ml Medium. Die Explantation erfolgt dann in entsprechende Gewebekulturkammern, die sofort nach dem Füllen in den Brutschrank bei 37 °C gebracht werden.

b) Gewinnung von Ascites-Zellkulturen

Durch Punktion gewonnener Ascites wird in einem sterilen Erlenmeyerkolben oder Becherglas aufgefangen und sofort verarbeitet.

Das Punktat ist auf zwei Portionen zu verteilen:

Zu einer Portion wird erst nach dem Zentrifugieren bei 3000 rpm 10 min lang Nährmedium zugesetzt.

Die andere Portion soll nativ ohne Vorbehandlung einen Zusatz von 20 % Nährmedium erhalten.

Dementsprechend kann die Zellkonzentration in beiden Fällen erheblich schwanken.
Die Zellen werden in geeignete Gewebekulturkammern eingefüllt und zum Auswachsen in den Brutschrank bei 37 °C gelegt.

Abb. 1 Phosphatgepufferte Kochsalzlösung

Na Cl	8,2 g
K Cl	0,4 g
KH_2PO_4	0,3 g
$Na_2HPO_4 + 12\ H_2O$	3,46 g
Penicillin	100 E/ml
Streptomycin	100 γ/ml
Aqua bidest.	ad 1000,0 ml

Abb. 2 Zusammensetzung des Nährmediums

Tissue Culture Medium 199 nach PARKER et al.	25 %
Foetales Kälberserum	10 %
Hanks-Salzlösung	55 %
Vitamin MeM 10%ig	5 %
Glutamin 10%ig	5 %
Penicillin	100 E/ml
Streptomycin	100 γ / ml

pH-Werteinstellung auf pH 6,8 mit 1,4%iger $NaHCO_3$

c) Beschreibung der Kammern zur Lebendbeobachtung der Zellen (Mikrokinematographie).

Für die Lebendbeobachtung der malignen Zellen kamen folgende Kammern zur Anwendung:

1. Die erste Kammer besteht aus einem Metallrahmen, in dessen Mitte zentral ein Loch (ø 34 mm) eingestanzt ist und der oben und unten mit einem sterilen Deckglas luftdicht verschlossen wird mit heißem Paraffin-Vaseline-Gemisch. An einer Seite dieses Rahmens befinden sich zwei Öffnungen von ca. 2 mm ø, die zum Einfüllen der Zellen und zum Mediumwechsel dienen. Diese Öffnungen verschließt man mit einem sterilen Metallstäbchen (Entwicklung in Anlehnung an LETTRÉ).
   Die Zellen wachsen auf dem Deckglasboden, so daß eine 1000-fache Vergrößerung möglich ist. Nachteilig wirkte sich das geringe Kammervolumen aus, das für die Zellen nur für einen begrenzten Zeitraum Nahrung und Sauerstoff enthält. Der dadurch erforderliche häufige Mediumwechsel stört die Zellproliferation und bringt die Gefahr einer erheblichen Infektion der Zellen mit sich.

2. Unter Berücksichtigung dieser Nachteile wurde eine Kammer von KRAHE entworfen und zu Untersuchungen verwendet.
   Sie besteht aus einem rechteckigen Metallkasten mit folgenden Außenmaßen:
   5 cm Länge, 4 cm Breite und 1,3 cm Höhe.
   In der Mitte dieser Kammer befindet sich von oben gesehen eine Vertiefung von 4,5 cm Länge, 1,5 cm Breite und 0,9 cm Tiefe.
   In der Vertiefung ist ein Fenster ausgeschnitten, das mit einem Deckglas verschlossen wird.

Beiderseits der Vertiefung befinden sich zwei Behälter, die als Medium- und Sauerstoffreservoir dienen. Sie enthalten zur Hälfte Medium und zur Hälfte Luft. Auf der oberen Wand der Behälter befinden sich 2 Öffnungen, die mit Schrauben verschlossen werden. Diese Öffnungen dienen zum Nachfüllen von Medium. An den Seitenflächen enthalten die Behälter zusätzlich zwei Öffnungen mit eingeschmolzenen Metallventilen, die zum Einfüllen der Zellen dienen. Unterhalb des Deckglases befindet sich ein Hohlraum, der zugleich Verbindung zu den beschriebenen Medium- und Luftbehältern hat. Der Boden der Kammer ist mit einem Deckglas luftdicht verschlossen mit heißem Paraffin-Vaseline-Gemisch.
Diese Kammer ermöglicht die Beobachtung der Zellen über einen längeren Zeitraum hinweg, weil das auf dem Deckglas wachsende Explantat dauernd mit frischer Nährlösung und Sauerstoff versorgt wird (Abb. 3).

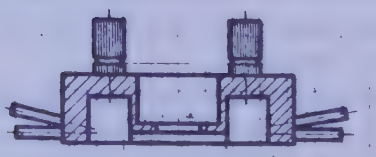


Abb. 3 a
Seitenansicht der Lebendbeobachtungskammer nach KRAUS.

Lebendbeobachtungskammer nach KRAHE

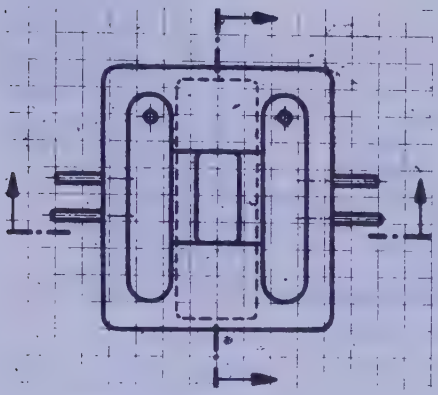


Abb. 3 b
Ansicht von oben

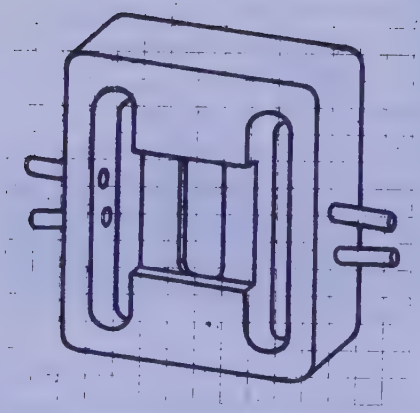


Abb. 3 c
Ansicht von unten

III. Mikrokinematographische Einrichtung (Abb. 4)

Die mikrokinematographische Einrichtung setzt sich aus sechs Teilen zusammen:

1. Mikroskop
2. Hüllthermostat
3. Verbindungsstück zwischen Mikroskop und Kamera
4. Kamera mit Stativ
5. Lichtquelle
6. Zeitraffergerät

1. Mikroskop

Für die Mikrokinematographie ist es sehr wichtig, daß ein Mikroskop mit bestkorrigierter optischer Ausrüstung angewendet wird.
Diese Forderung erfüllt das umgekehrte biologische Mikroskop M 40 der Firma WILD, das für die Untersuchungen an lebenden malignen Zellen sehr vorteilhaft ist. Es besteht die Möglichkeit, alle Untersuchungsmethoden durchzuführen von Durchlicht im Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast, im polarisierten Licht bis zur Fluoreszenz. Für die cytologische Forschung ist das Phasenkontrastverfahren besonders gut geeignet, da lebende Objekte in maximalem Kontrast und guter optischer Auflösung ohne chemische Beeinflussung (Vitalfärbung) untersucht werden können.

2. Hüllthermostat

Um eine konstante Temperatur von 37 °C, die zum Weiterleben der zu beobachtenden Zellen notwendig ist, zu sichern, wird

Mikrokinematographische Einrichtung der Firma WILD

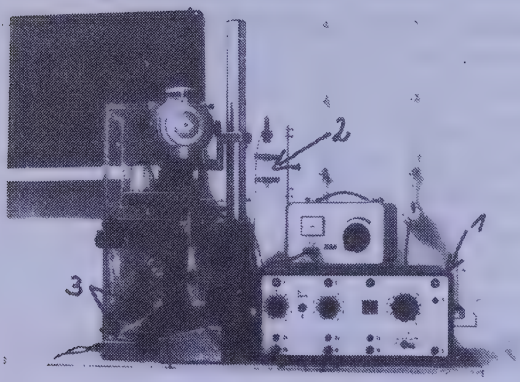


Abb. 4 a
1) Zeitraffergerät
2) Kontaktthermometer im Hüllthermostat
3) Photozelle und Verstärker

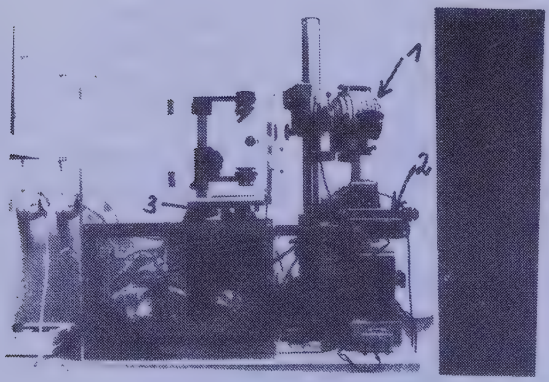


Abb. 4 b
1) Quarzjodidlampe
2) Kamera
3) Umgekehrtes Mikroskop M 40 im Hüllthermostat
4) Beobachtungs- und Einstellstutzen

ein Hüllthermostat angewendet. Er besteht aus einem Plexiglaskasten, in dem zwei Heizplatten mit Luftumwälzer untergebracht sind. Dadurch ist eine gleichbleibende Temperatur von 37 °C garantiert. Das Mikroskop steht mit der Zellkultur unter der Plexiglashaube.
Die Verwendung von Wärmetischen am Mikroskop wurde wegen der erheblichen Temperaturschwankungen in diesem relativ sehr kleinen Raum aufgegeben.

3. Verbindungsstück zwischen Mikroskop und Kamera

Das Verbindungsstück oder auch Einstellstutzen genannt soll ermöglichen, das Bild während der Aufnahme in genauem Ausschnitt scharf einzustellen. Eine weitere Bedingung, die das Verbindungsstück erfüllen muß, ist die Möglichkeit, gewisse Daten (Zeit, Ereignis der Objektbeeinflussung etc.) mit dem mikroskopischen Bild resp. in das Einstellfernrohr einzuspiegeln. Diese Marken erleichtern die spätere Auswertung des Filmstreifens. Das Verbindungsstück wird am monokularen Gradtubus befestigt und ist somit optisch auf das Mikroskop eingestellt. In dem Einstellstutzen ist eine Photozelle, die mit einem geeichten Galvanometer und Verstärker kombiniert ist. Das aus dem Mikroskopokular austretende Lichtbündel enthält praktisch alle die Filmbelichtung beeinflussenden Faktoren und kann deshalb am Einstellstutzen gemessen und eingestellt werden.

Für normale Hellfeld- und Phasenkontrastaufnahmen genügt es, dieses Lichtbündel in seinem ganzen Querschnitt mit einer photoelektrischen Zelle zu erfassen und die Belichtung auf einem geeichten Galvanometer zu ermitteln. Bei geringer Helligkeit, z. B. bei Zeitrafferaufnahmen mit Zeitbelichtung, muß dem Galvanometer noch ein Meßverstärker vorgeschaltet werden.

4. Kamera mit Stativ

Für die beschriebenen mikrokinematographischen Untersuchungen wurde eine BOLEX 16 mm-Kamera verwendet. Sie besitzt alle notwendigen Voraussetzungen wie: Wechselbare Optik, Federmotor, Einzelbildschaltung für Moment- und Zeitbelichtung (für Zeitrafferaufnahmen), Bildfrequenzwahl von 8 bis 64 Bilder pro sec, Einzelbildzählwerk, variable Sektoröffnung, Aufnahme von 30 m Filmspulen sowie Antrieb mit Elektromotor.
Das mikroskopische Bild wird im Unendlichen entworfen, da der Einstellstutzen fest mit dem Mikroskop verbunden ist. Es wird ein auf unendlich eingestelltes Kameraobjektiv mit einer Brennweite von 50 oder 75 mm verwandt. Die Aperturblende des Kameraobjektives muß völlig geöffnet sein. Der Abbildungsmaßstab des Filmbildes ergibt sich aus dem Produkt der Eigenvergrößerung des Mikroskopobjektivs multipliziert mit dem Faktor $\frac{F}{250}$, wobei F die Brennweite in mm des Kameraobjektivs angibt. Die Kameraobjektivfrontlinse soll möglichst nahe zum Mikroskopokular gebracht werden.

Um Erschütterungen und dadurch verursachte Unschärfen des Objektes zu vermeiden, darf die Kamera nicht fest mit dem Einstellstutzen verbunden sein.
Die Filmkamera ist mit vertikaler optischer Achse in der Höhe verschiebbar und ausschwenkbar an eine Gußgrundplatte mit einer senkrechten, kräftigen Stütze montiert.

5. Lichtquelle

Von großer Bedeutung für die Mikrokinematographie bei Anwendung des Phasenkontrastverfahrens ist die Lichtquelle. Für die durchgeführten Untersuchungen wurde deshalb eine Quarzjodidlampe der Firma WILD benutzt, die die einfache Bedienung einer Niedervoltlampe mit der großen Lichtintensität von Halogen-Gaslampen verbindet.

6. Zeitraffergerät

Langsame Bewegungsvorgänge, die bei Betrachtung lebender Zellen mit Hilfe des Phasenkontrastes nicht mehr erkennbar sind, lassen sich durch Zeitraffung bei Anwendung der Mikrokinematographie demonstrieren. Dafür müssen pro Zeiteinheit weniger Bilder des zu beobachtenden Vorganges hergestellt werden als später bei der Projektion zur Vorführung gelangen. Das gelingt nur, indem der Zeitfaktor verändert wird. Um den Zeitfaktor wesentlich zusammenzuraffen, werden von der Industrie die verschiedensten Steuergeräte angeboten.
In den vorliegenden Untersuchungen kam das WILD-Zeitraffergerät, das auf elektronischer Grundlage arbeitet, zur Anwendung.

Dieses Gerät hat zur Aufgabe, die Kamera, die Lichtquelle und eventuell noch weitere Elemente in wählbaren Zeitintervallen zu betätigen, die unter sich synchronisierbar sind.
Die verschiedenen Impulse werden erforderlich zur Steuerung des Motors der Kamera und zur Steuerung eines elektromagnetischen Verschlusses. Die Impulse können in beliebigen Zeitintervallen erfolgen. Die Dauer des Hauptimpulses kann 1 bis 5 sec betragen, die Nebenimpulse sind parallel zum Hauptimpuls geschaltet und ermöglichen eine maximale Dauer bis zu 4,5 sec. Die Nebenimpulse lassen sich beliebig während der Dauer des Hauptimpulses elektronisch in Tätigkeit setzen.
Drei Impulse benötigt man bei der Mikrokinematographie, weil die Einschaltung der Lichtquelle und Öffnung und Schließung der Blende sowie der Hauptimpuls für den Motor der Kamera in genauen Zeitabständen zu regeln sind. Der elektromagnetische Verschluß arbeitet unabhängig vom Kameraverschluß.
Eine ständige Lichteinstrahlung wäre selbstverständlich möglich. Allerdings dürfte eine Schädigung der Zellkultur durch die Lichtenergie bzw. Wärmeentwicklung unvermeidlich sein. Andererseits würde das ständige, in bestimmten Zeitintervallen erforderliche, An- und Ausschalten der Quarzlampe zu einem schnellen Verbrauch und Verschleiß der relativ kostspieligen Lampe führen.
Für die Untersuchungen wurde eine BOLEX H 16 Kamera verwandt, die an einem Stativ hängt.

Das Kameraobjektiv steht nicht in direktem Kontakt mit der Mikroskopiereinheit um Erschütterungen, die vom Motor auf das Objekt übertragen werden können, zu vermeiden.
Andernfalls wäre eine Unschärfe des Bildes die unvermeidliche Folge. Ein wesentlicher Vorteil der mikrokinematographischen Einrichtung der Firma WILD beruht auf dieser Tatsache gegenüber anderen Fabrikaten.

IV. Experimenteller Teil

1. Beobachtungen amöboider Zellen in soliden malignen Tumoren und im Ascites weiblicher menschlicher Genitaltumoren.

a) Einleitung

Kleine Bewegungen im Cytoplasma sind in lebenden Zellen weit verbreitet, aber wenn sie nicht koordiniert werden und in Raum und Zeit zusammenwirken, können sie sich nicht zur Strömung entwickeln. Es ist gebräuchlich, die Plasmaströmung in zwei größere Gruppen zu unterteilen. Die erste umfaßt die Strömungen, die unabhängig von Änderungen der äußeren Zellform ablaufen, wie dies der Fall in Pflanzenzellen oder Dermatoplasten ist. Der andere Typ vereinigt Strömungen, die eng mit Änderungen der Zellform verbunden sind. Dieser Typ wird als amöboide Bewegung gekennzeichnet und durch Amöben, Schleimpilze u. a. repräsentiert (KAMIYA (5)).
Es ist bisher unbekannt, ob diesen zwei hauptsächlichen Bewegungsformen ein einheitlicher Motilitätsmechanismus zugrunde liegt.

Verschiedene Typen von Formveränderungen und Protoplasmabewegungen der amöboiden Zellkörper versuchte man auf dem Wege verschiedener Theorien zu erklären.
Eine der ältesten Deutungen, Kontraktilitätstheorie in der ältesten Fassung, die noch auf: BRÜCKE (1861), HAECKEL (1862), REICHERT (1862/63), De BARY (1862/64), KÜHNE (1864 (6)) und andere zurückgeht, hat den Kernpunkt, daß Kontraktilität eine generelle Eigenschaft jedes lebenden Plasmas sei und daß auch die Formveränderungen der strömenden amöboiden Zellen nur eine Äußerung dieser Eigenschaft sind. Man versuchte das Zustandekommen der Kontraktilität des amöben Plasmas durch hypothetische Plasmafibrillen, die ein kontraktiles festeres Gerüstwerk bilden sollten, zu erklären.
Die Frage nach dem Aggregatzustand des Plasmas schien von entscheidender Bedeutung zu sein. Bekannt war, daß Plasma kolloide Natur hat. Nach Erkennung des heterogenen Wesens solcher disperser Systeme wie der Kolloide wurde ersichtlich, daß es zunächst überhaupt nur noch in beschränktem Maße einen Sinn hat, vom Aggregatzustand des ganzen Kolloides zu sprechen, und daß zwischen dem Solzustand eines Kolloides, in dem diesem noch ziemlich die Eigenschaften einer Flüssigkeit zukommen und dem Gelzustand, in dem die dispersen Partikel sich nicht mehr ungehindert aneinander vorbeibewegen können, alle Vorgänge vorhanden sind.
Verschiedene Plasmaarten können von unterschiedlicher Konsistenz sein, sogar innerhalb derselben Zelle beobachtete man sowohl den Sol- als auch den Gelzustand oder Übergänge von einem in den anderen.

Sobald sich das Plasma einer Zelle wenigstens teilweise im Gelzustand befindet, müssen wir mit der Möglichkeit einer Volumenverminderung und mit einer Kontraktion rechnen.
Eine amöboide Beweglichkeit können nur Zellen entfalten, deren Plasma wenigstens zum Teil noch im Solzustand ist. Während der Entwicklung der Zellen verschiebt sich der Zustand immer mehr vom Sol- zum Gelzustand. Aber auch Zellen in späteren Entwicklungsstadien, unter ihnen höher differenzierte festere Zellformen, können unter geeigneten Bedingungen immer wieder beweglich werden, da manchmal zur Erlangung amöboider Beweglichkeit eine geringe Menge flüssiger Oberfläche genügt.
Die Protoplasmabewegungen äußern sich in Gestaltsveränderungen und in gerichteten Strömungen des Zellinnern. Diese Vorgänge wurden am eingehendsten an Zellen der Protozoen (Rhizopoden) studiert.
Trotz der Fülle der Variationen läßt sich doch eine Anzahl charakteristischer Typen von Formveränderungen und Strömungserscheinungen herausschälen, die man experimentell besonders gut an Amoeba polypodia, Amoeba terricola, Amoeba proteus, Schleimpilzen (Myxomyceten), Schleimamoeben, Pelomyxa und anderen in verschiedenen Medien beobachten kann.

Es existieren zahlreiche Hypothesen der amöboiden Bewegung, sowohl über die Natur der beteiligten Kraft, als auch über den Entstehungsort. Ältere Versuche, die Plasmabewegung physikalisch (JENNINGS (7), RHUMBLER (8)) und durch die Oberflächenspannungstheorie

zu erklären, blieben erfolglos, da die Membranen, die zu einer gewissen Veränderlichkeit fähig sind, im Experiment fehlten (SPEK (9)).

Neuere Untersuchungen über die Motilität des Plasmas deckten in Plasmodien die Eigenschaften der kontraktilen Proteine auf, die an der Bewegung teilhaben. Sie sind qualitativ dem Actomyosin des Muskels ähnlich. Die Gegenwart kontraktiler Proteine und Faserstrukturen ist festgestellt worden. (SIMARD-DUQUESNE und COUILLARD (10)) Unklar bleibt der genaue Wirkungsort dieser Proteine, mit deren Hilfe die Antriebskraft der Strömung produziert wird. Die Antriebskraft der Endoplasmaströmung in der Amöbe wurde durch die Mikro-Doppelkammer-Methode bestimmt. Diese beträgt ca. 1/10 von der des Schleimpilzes (KAMIYA (11)).

Arbeiten von BETTEX-GALLAND und LÜSCHER (12), NAKAJIMA (13), HOFFMANN-BERLING (14) und anderen über actomyosin-ähnliche Proteine legen die Allgemeingültigkeit des biochemischen Grundprinzips nahe, welches als mechano-chemisches System der nichtmuskulären Motilität wirkt. Mit dem Anwachsen der Kenntnisse über die Muskelkontraktion findet man immer mehr Ähnlichkeiten zwischen Muskeln und nichtmuskulären Bewegungen. Diese darf man nicht überschätzen, denn es sind Plasmamotilitäten bekannt, die von Proteinsystemen abhängen, welche sich vom Actomyosin unterscheiden. Beim gegenwärtigen Stand unseres Wissens kann gesagt werden, daß das Grundprinzip der Plasmamotilität auf aktiven und reversiblen Änderungen von Proteinstrukturen basiert, die mit der Energiezufuhr aus ATP gekoppelt sind (KAMIYA (5)).

Am direktesten schließen sich den Amöben in ihrem ganzen Verhalten die Leukozyten und Lymphozyten an, wie z. B. eine ovale glattrandige Wanderform, Formen mit vorfließenden breiten Kuppenpseudopodien und verästelte Typen.
Eosinophile Leukozyten weisen außerordentlich viele Analogien mit kleinen Wanderformen von Amoeba terricola auf: Ein breites Vorderende mit breitem Rand von Hyaloplasma, welches durch eine scharfe Linie von dem mit vielen feinen Bläschen durchsetzten Endoplasma getrennt ist. KOSENOW (15) hat die amöboide Bewegung der Leukozyten mit dem Phasenkontrastmikroskop beobachtet, die folgende Charakteristika aufwiesen: Zunächst bildet sich an einer Zellseite in der vorgesehenen Bewegungsrichtung ein mehr oder weniger breitbasiger Cytoplasmafortsatz. Diese manchmal pseudopodienartige Ausstülpung fließt dem übrigen Zelleib tastend voran und ist imstande, kleinere Hindernisse, z. B. bewegliche Erythrozyten, beiseite zu drängen. Die dem Fortsatz unmittelbar benachbarte Granulamenge ist an seiner Basis zu einer Art Phalanx geordnet. Dieser zähflüssige Strom ist gut von der Brown'schen Molekularbewegung unterscheidbar. Häufig rollen oder tanzen als Vorboten einzelne Körner in die Hyaloplasmaschicht des Fortsatzes hinein und leiten das Nachfließen der übrigen Granula in ganzer Breite ein. Wird die Fortbewegung in derselben Richtung beibehalten, setzt sich der übrige granulahaltige Plasmastrom in Bewegung und schiebt dabei den ebenfalls ungemein plastisch verformbaren Kern mit sich fort, dieser zieht dann seinerseits den übrigen Zellkörper hinter sich her.

Diese Vorgänge verlaufen als ein harmonisch ineinandergreifender Bewegungskomplex. Sofern das Cytoplasma einzelne Vakuolen oder andere Elemente enthält, werden diese ebenso wie die kernigen Elemente von der Bewegung der Grundsubstanz fortgetragen. Die kriechenden Leukozyten bieten ein ungeahntes Ausmaß von Formveränderungen. Oft angetroffene Strukturform ist ein meist rundlich geformtes und durch eine schmale Brücke mit dem hinteren Ende der Zelle verbundenes Anhangsgebilde, das ebenfalls Cytoplasmasubstanz, einzelne Granula und dendritenartige Fäden enthalten kann. Dieses Anhangsgebilde wird bei der Fortbewegung mitgezogen. Es wurde beobachtet, daß bei Abtrennung eines größeren kernlosen Zellteils dieser zu einer selbständigen Bewegung fähig ist. Die Beobachtung spricht dafür, daß entweder der Kern in der Steuerung der Bewegungsfunktion der Zelle keine maßgebliche Rolle spielt oder daß Teile des Cytoplasmas in der Lage sind, diese im Bedarfsfalle zu ersetzen.
Neben ihrer Fähigkeit zur Fortbewegung und Phagozytose haben die Leukozyten auch die bemerkenswerte Eigenschaft thigmo- oder chemotaktischen Reizen zu folgen, die man sehr gut im frischen Feuchtpräparat bei geeigneter Temperatur beobachten kann, wenn zufällig auf dem Objektträger feste Gegenstände (Thigmotaxis) oder sauerstoffhaltige Luftblasen (Chemotaxis) liegen, die die Leukozyten herbeilocken (HIRSCHFELD (16)).
In letzter Zeit wurde von DELAUNAY (17), ROBINEAUX (18) und anderen festgestellt,

daß die chemotaktischen Eigenschaften nur in einem geeigneten Milieu beobachtet werden können und zwar bei Blutleukozyten in frischem Serum und bei Exsudatzellen in frischer Exsudatflüssigkeit. Wenn Serum bzw. Exsudat über das Verhältnis 1:2 verdünnt wird, oder eine Stunde bei 56 °C erhitzt bzw. mehrere Tage im Eisschrank bei 4 °C konserviert wird, führt das zu einer merklichen Hemmung bis zur völligen Aufhebung der chemotaktischen Eigenschaften. Ein erneuter Zusatz frischen Serums oder Exsudates vermag diese Behinderung rückgängig zu machen. DELAUNAY und Mitarbeiter (19) nehmen an, daß frisches Serum ein für die chemotaktische Bewegung erforderliches Komplement enthält. Zur Prüfung der chemo- und thigmotaktischen Fähigkeit der Leukozyten dient der Stärkeversuch. Das Prinzip der Stärkereaktion beruht darauf, daß polynukleäre Leukozyten nicht nur von dieser Substanz angelockt werden, sondern daß sie sich den einzelnen Körnern nach einer gewissen Zeitspanne breitflächig und so eng wie möglich anlagern. Aus der Art und Weise wie dies geschieht und der Anzahl der so reagierenden Zellen ergibt sich ein quantitatives Maß für den hemmenden oder fördernden Einfluß einer zugesetzten Substanz.

Den Erythrozyten wird eine aktive Beweglichkeit abgesprochen. Beobachtungen mit dem Phasenkontrastmikroskop weisen darauf hin, daß der Erythrozyt eine kennzeichnende Eigenbeweglichkeit seiner Plasmamasse besitzt. Man kann unaufhörliche, leicht vibrierende Bewegungen des plasmatischen Inhalts beobachten, auch dann, wenn das Blutkörperchen keine Änderung oder Beeinträchtigung der äußeren Form

aufweist. Wie plastisch verformbar diese Substanz ist, kann man an Engpässen, durch welche die Erythrozyten durchschlüpfen müssen, sehen. Häufig wurden Verformungen beobachtet wie z. B. rüsselförmige Ausstülpungen oder Fortsatzbildungen.
Offenbar handelt es sich dabei um eine Art Eigenbewegung der belebten Plasmamasse des Erythrozyten, die allerdings nicht oder sehr wenig zur eigentlichen Ortsveränderung der Zelle beitragen dürfte (KOSENOW (15)).

Auftrennung, Verteilung, Wanderung und Aggregation von Zellen sind die wesentlichen Werkzeuge, die ein heranreifender Organismus benutzt, um sich aus einer scheinbar amorphen Zellmasse in eine charakteristisch geordnete Ansammlung vielzelliger Bereiche umzuformen. Die Dissoziation von Zellen ist nicht auf die embryonale Lebensphase beschränkt. Sie tritt auch im erwachsenen Organismus z. B. bei der Wundheilung in Erscheinung. In einer Hautwunde werden vom Blutstrom und angrenzenden Bindegewebe amöboide phagozytäre Zellen mobilisiert, um verletzte Zellen und Fremdkörper zu entfernen.
Hautzellen, welche die Wunde umgrenzen, lösen sich aus ihren festen Bindungen und wandern durch die Schicht geronnenen Blutes, bis sie gleichartige Zellen treffen und diese erkennen (GARBER (20)).
Mit Hilfe des Trypsinierungsverfahrens in Anlehnung an DULBECCO und VOGT (4) besteht die Möglichkeit, allen im Organismus vorkommenden Zellen amöboide Eigenschaften zu verschaffen. Nach Herauslösung aus dem Gewebsverband, nach Auflösung der Kittsubstanzen sind

auch große Plattenepithelzellen zu amöboider Bewegung befähigt. Die sozusagen natürlich im lebenden Organismus vorkommenden Bausteine dieses Typs unterscheiden sich von den künstlich durch Trypsinierung erzeugten durch ihre erheblich größere Bewegungsaktivität.
Im Tumorascites finden sich sowohl benigne, natürlich vorkommende, frei bewegliche Zellen, als auch andere, die von soliden Malignomen stammen müssen.
Als Beweis für das Vorkommen freier Malignomzellen darf die Möglichkeit der Bildung von Ascites bei der Transplantation herangezogen werden. Zahlreiche tierexperimentelle Impftumoren, wie z. B. das Jensen-Sarkom der Ratte, Walker-Carcinosarkom der Ratte und ähnliche, sind als Beispiele bekannt.
Die Differenzierung von Ascites-Zellen in gutartige und bösartige gestaltet sich bei der Lebendbeobachtung von Zellen schwierig. Lediglich Kernbesonderheiten oder Besonderheiten beim Ablauf der Mitose können als Hinweise für die Malignität der Zellen herangezogen werden.
Das fixierte und gefärbte Präparat bietet weitere cytologische Kriterien, die eine Unterscheidung erlauben. Die Klassifizierung der physiologisch vorkommenden amöboiden Zellen in Gewebekulturen stößt auf erhebliche Schwierigkeiten (BELL (21)).
Bereits 1887 hat ARNOLD (22) in seiner Arbeit: "Über die Theilungsvorgänge an den Wanderzellen, ihre progressiven und retrogressiven Metamorphosen" sich mit dieser Problematik befaßt.
Die fixierten und gefärbten Präparate erlauben durch den stärkeren Kontrast der einzelnen Zell-

bestandteile und die unterschiedliche Anfärbbarkeit der verschiedenen Typen und ihrer Bestandteile sowohl in quantitativer als auch in qualitativer Hinsicht eine bessere Typisierung. Sie bieten also mehr Merkmale, die die Unterscheidung verschiedener Zelltypen ermöglichen. Weitere Möglichkeiten zur Klassifizierung der amöboiden Zellen ergeben sich durch die Anwendung histochemischer und photometrischer Messungen. Mit Hilfe der Anwendung radioaktiver Substanzen und der Autoradiographie können Zellen nach ihrer Leistung und ihren Funktionen in bestimmten Stoffwechselreaktionen beurteilt werden.
Verschleiert bleibt im fixierten Zustand jedoch der Phänotypus der lebenden Zellen, ihre Bewegungsaktivität und die Art, wie sie die Funktionen, die zur Erhaltung ihrer eigenen Art erforderlich sind oder auch die ihr im Rahmen der Erhaltung des Körpers zugewiesen wurden, erfüllt.
Die Aufnahme der Nahrung z. B. oder auch die Abgabe gebildeter Sekrete läßt sich mit Hilfe der Lebendbeobachtung und besonders der Mikrokinematographie studieren.

Wegen der beschriebenen Schwierigkeiten der Bestimmung und Definition der einzelnen lebenden amöboiden Zellen in vitro und der Vielfalt ihrer Arten können im Rahmen dieser Arbeit nur einige Besonderheiten beschrieben werden.

b) Bewegungsaktivität von Asciteszellen

Insgesamt kamen 6 Primärexplantate menschlichen Ascites zur mikrokinematographischen Beobachtung. Im einzelnen lautete die histologische Diagnose:

1. Fall: Netzmetastasen eines papillären Adeno-Carcinoms, Primärtumor dürfte in erster Linie im Ovar zu suchen sein.

2. Fall: Papilläres Adeno-Carcinom, Primärtumor dürfte im Ovar liegen.

3. Fall: Metastasen eines malignen, embryonalen Tumors, hergeleitet aus einem malignen Teratom eines Ovars.

4. Fall: Papilläres Adeno-Carcinom, metastasierendes Ovarial-Carcinom.

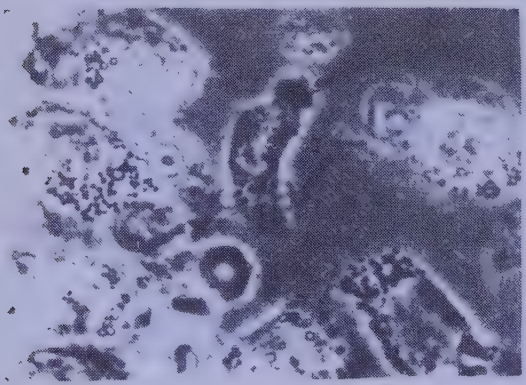
5. Fall: Metastasen eines teilweise solide gewachsenen Adeno-Carcinoms.

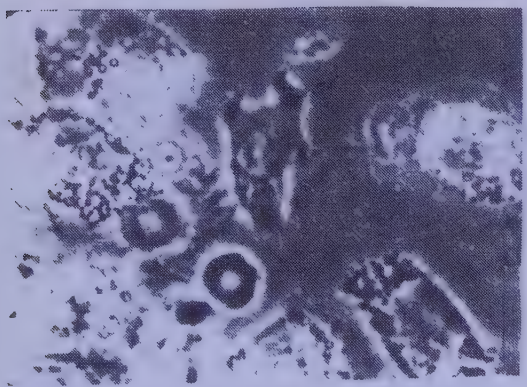
6. Fall: Metastasierendes papilläres Adeno-Carcinom, Primärtumor dürfte im Ovar liegen.

Die Beobachtungen erfolgten unter den gleichen Bedingungen mindestens 24 Stunden lang (Aufnahmefrequenz: Alle 8 sec ein Bild, Kameraobjektiv: 50 mm, Mikroskopobjektiv: 20 x, Mikroskopokular: 10 x, Abbildungsmaßstab auf dem Filmbild: 40 : 1).

Allen Explantaten ist eine sehr starke Bewegungsaktivität gemeinsam. Die Zellen bewegen sich so schnell fort, daß ihre Beweglichkeit ohne Zeitraffung erkennbar wird.
Dementsprechend gelingt in der kurzen Beobachtungszeitspanne zwischen zwei Aufnahmen die scharfe Einstellung im Brennpunkt der Optik nicht immer. Das Ausmaß der unterschiedlichen Motilitätsaktivität läßt sich nicht nur bei der Vorführung des entwickelten Filmes erkennen, sondern auch die Qualität des Filmes läßt Rückschlüsse auf die Bewegungsintensität der Asciteszellen zu. Trotz der verschiedenen histologischen Diagnosen des soliden Tumoranteils lassen sich keine Gesetzmäßigkeiten hinsichtlich der Motilitäts-

größe der verschiedenen histologisch definierten Tumoren feststellen. Auch die Ovarial-Carcinome mit histologisch gleichem Aufbau zeigten in ihrer Ascitesform eine unterschiedliche Beweglichkeit (Abb. 5 - 7).





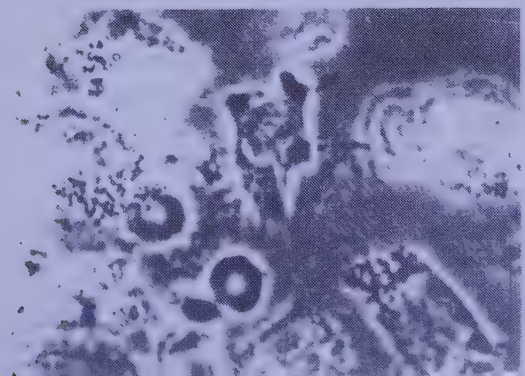


Abb. 5, 6, 7.
Veränderung der beobachteten Zellen (Fall 3) von Bild 5 zu Bild 6 innerhalb von 3 min und Veränderung von Bild 6 zu Bild 7 innerhalb von 8 sec.
Die starke Bewegungsaktivität verdeutlicht besonders die amöboide Zelle im Mittelpunkt des Bildes.

Trotz des innigen Kontaktes, den die Zellen miteinander haben, ließ sich in 5 der beobachteten Kulturen verschiedenen Ursprungs nie der gegenseitige Austausch von Zellbestandteilen beobachten. Der Zellindividualismus blieb in diesen Explantaten immer bewahrt, obwohl häufig eine kleine Zelle auf der größeren stundenlang herumwanderte (Abb. 8 - 11).

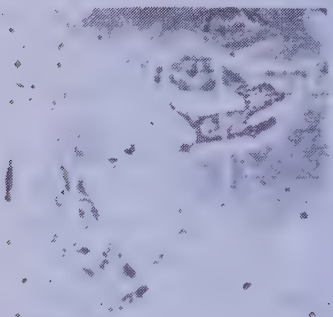


Abb. 8

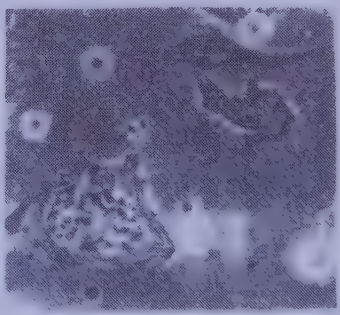


Abb. 9

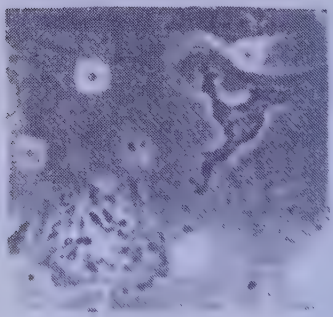


Abb. 10

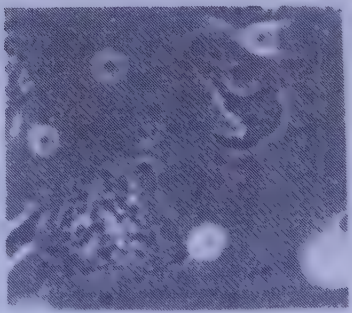


Abb. 11

Abb. 8 - 11

Auf einer großflächigen polygonalen Epithelzelle erkennt man deutlich eine erheblich kleinere amöboide Zelle, an deren Cytoplasmastrukturveränderung die starke Bewegungsaktivität innerhalb weniger Sekunden erkennbar wird. Die Photographien können den Gesamteindruck nicht ersetzen, den der vorgeführte Film, aus dem diese Bilder stammen, hinterläßt.

c) Synzytium und besondere Vermehrungsformen von Ascites-Carcinomzellen

Im 6. Fall, dessen histologische Diagnose: Metastasierendes papilläres Adeno-Carcinom lautete, fanden sich in vitro reichlich fädige Strukturen, die an Fibrinfäden erinnerten. In diesem wirren beweglichen Gitterwerk turnten die Zellelemente wild herum. Es entstand schon bei der Lebendbeobachtung der Eindruck, daß eine Protoplasmadurchmischung von Zelle zu Zelle stattfindet. Ab und zu glaubte man, daß sich aus mehreren Zellen ein Cytoplasmapool bildete.
Die beschriebenen fädigen Strukturen erfuhren anscheinend eine Wiederbelebung bzw. sie wurden in die lebende Substanz wieder aufgenommen. Dieser bereits bei der Lebendbeobachtung gewonnene Eindruck verstärkte sich noch bei der Vorführung des Filmes.
Es müßte aus dem Gesehenen erwogen werden, ob bei gewissen Ascitesformen besondere Vermehrungsfunktionen des Ascites bestehen. Auf das Wort Zellteilung oder Zellvermehrung wird in diesem Zusammenhang bewußt verzichtet, weil keine Zellteilungen in klassischem Sinne feststellbar waren und die numerische Auswertung hinsichtlich der Zellanzahl zum Beginn und Ende des Versuches leider unterblieb.
Der klinische Verlauf untermauerte die ausgesprochene Vermutung der besonderen Vermehrungsform des Ascites, weil sich der Ascites bei der Patientin immer wieder nach der Punktion sehr schnell auffüllte.

Die fortlaufende Einzelbildbeobachtung zeigt ein Synzytium zwischen den Ascites-Carcinomzellen. Der Austausch von Cytoplasma zeigt sich im Rechteck 1. Die Cytoplasmabrücke schwillt beim Cytoplasmatransport von Zelle zu Zelle an und dann wieder ab. Zwischen den einzelnen Bildern liegt ein Zeitintervall von ca. 5 Minuten (Abb. 12 - 21).

Unten im Photo (Rechteck 2) zeigt sich leider durch die raschen wogenden Bewegungen zum Teil etwas unscharf ein Konglomerat von Zellen, die sich miteinander vermischen. Besonders kommt dies zum Ausdruck beim Vergleich der Abbildungen 12 und 13 mit den Abbildungen 14 und 15.
In den Abbildungen 12 und 13 liegen die beiden Zellen noch völlig voneinander getrennt optisch von einem weißen Hof umgeben. Bei den Abbildungen 14 und 15 bestehen deutliche Protoplasmabrücken von Zelle zu Zelle. Zeitlich gesehen wurden die Bilder in einem Abstand von ca. 5 Minuten aufgenommen.

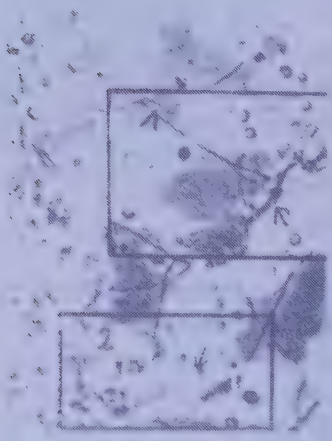


Abb. 12

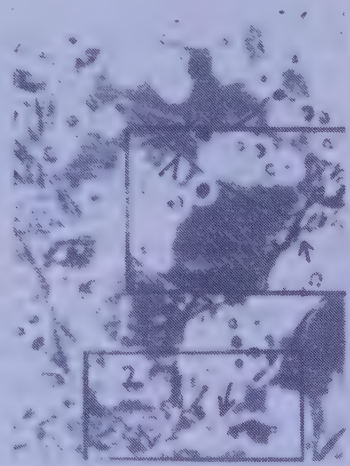


Abb. 13

Abb. 14

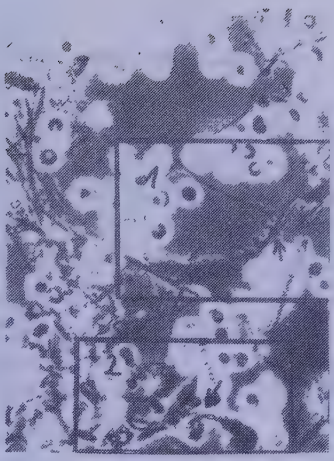


Abb. 15

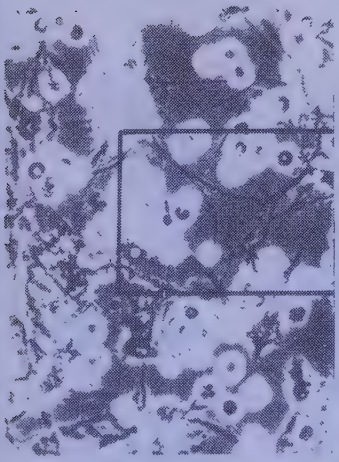


Abb. 16

Abb. 17

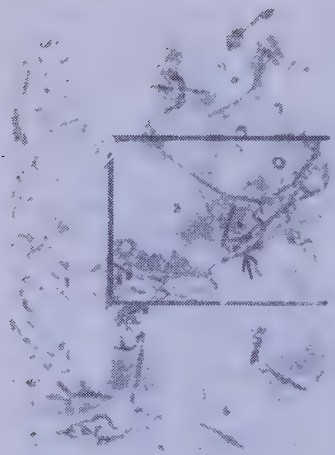


Abb. 18

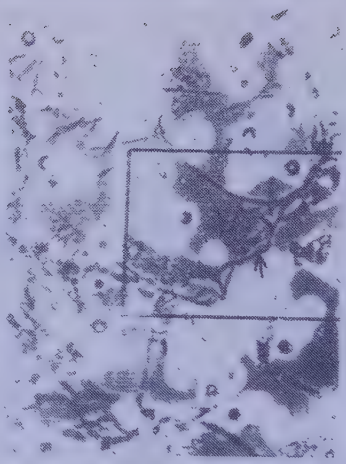


Abb. 19

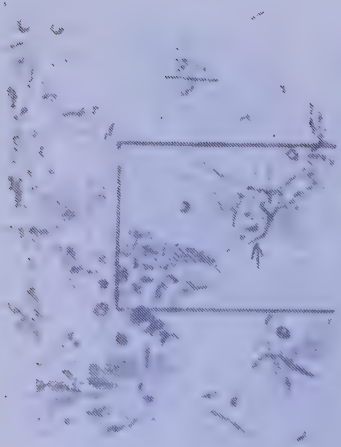


Abb. 20

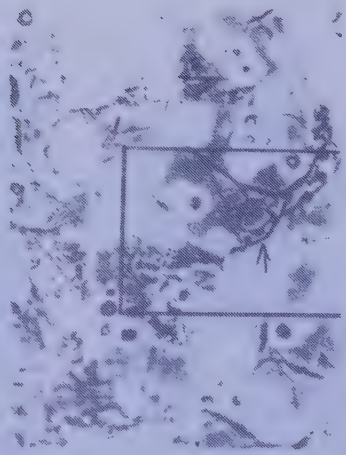


Abb. 21

Cytoplasmatransport ersichtlich aus den an- und abschwellenden Protoplasmaverbindungen

Bei intensiver Betrachtung der Einzelbilder läßt sich die Bildung neuer Zellen durch Abschnürung nachweisen. In der linken oberen Bildecke im markierten Rechteck bewegt sich neben einer mittelgroßen Zelle ein kleines, agiles, lymphozytenähnliches, längliches Gebilde (Abb. 22 und 23), das sich zeitweise abrundet (Abb. 24) und wieder streckt. Es geht dabei auch eine direkte Berührung mit der größeren Zelle ein (Abb. 25). Es trennt sich jedoch wieder von der größeren (Abb. 26). Nach diesem Trennvorgang rundet sich die kleine Zelle wieder ab (Abb. 27). Über der abgerundeten Zelle wird ein größerer Cytoplasmaausläufer erkennbar, der sich schließlich abschnürt (Abb. 28). Es sind somit aus den beiden beobachteten Zellen insgesamt 3 Zellen geworden.
Während dieses Vorganges findet etwa in gleicher Höhe des Bildes in der Mitte zwischen zwei mittelgroßen Zellen eine Cytoplasmaverbindung statt, bei der Zellbestandteile miteinander ausgetauscht werden können.

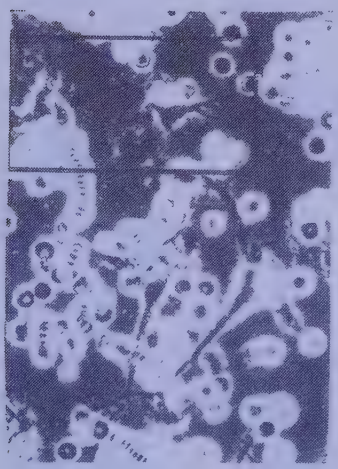


Abb. 22

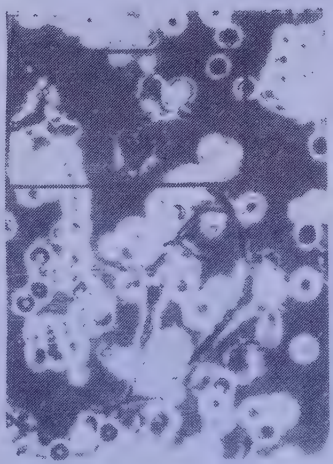


Abb. 23

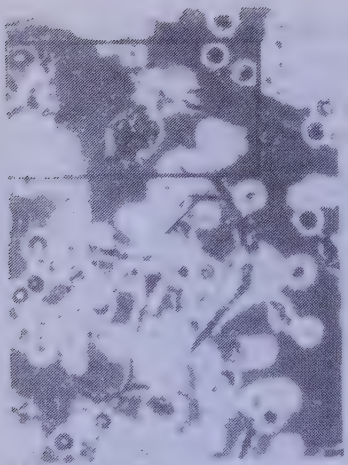


Abb. 24

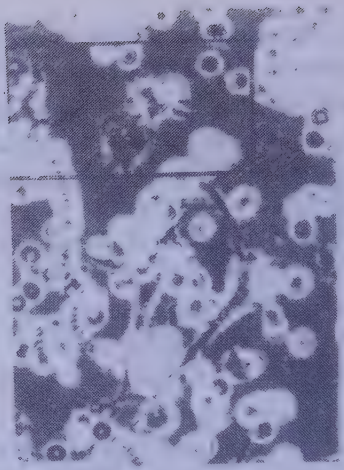


Abb. 25

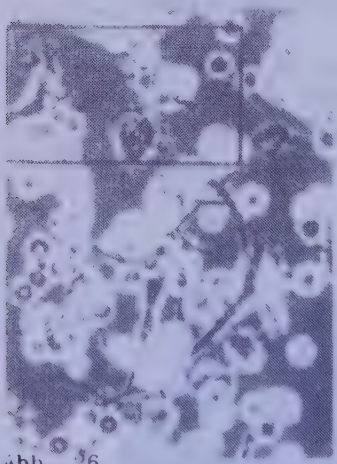


Abb. 26

Abb. 27

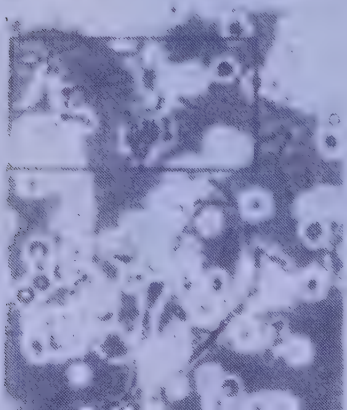


Abb. 28

In der Mitte des Bildes unter einer Ansammlung von Erythrozytengeldrollen findet sich eine Zelle, die mit einer weiteren nach rechts oben zu mit Ausläufern in Verbindung steht.
Der Cytoplasmaaustausch ist beim Vergleich der ersten fünf Bilder durch eine Volumenänderung dieser Ausläufer erkennbar (Abb. 29 - 33).
Die nächsten fünf Bilder zeigen, daß sich die beschriebenen Zellen ineinander schieben und offenbar durchmischen (Abb. 34 - 38). In gewissen Zeitintervallen erscheinen wieder Zellindividuen, die ebenfalls Ausläufer zu anderen Zellen hinsenden (Abb. 39 - 44).

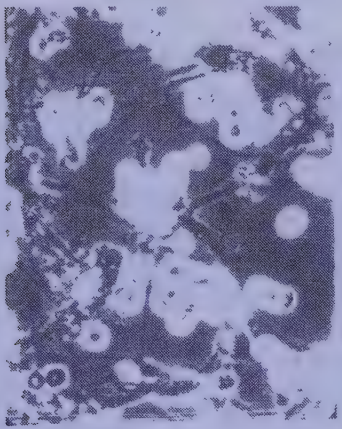


Abb. 29

Abb. 30

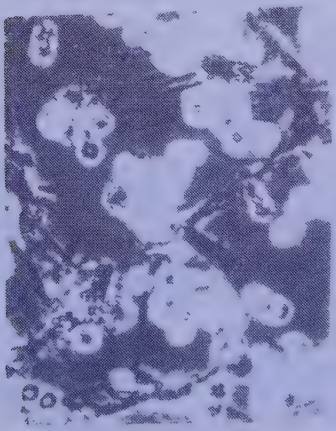


Abb. 31

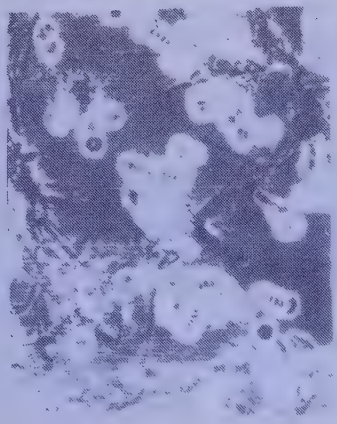


Abb. 32

Abb. 33

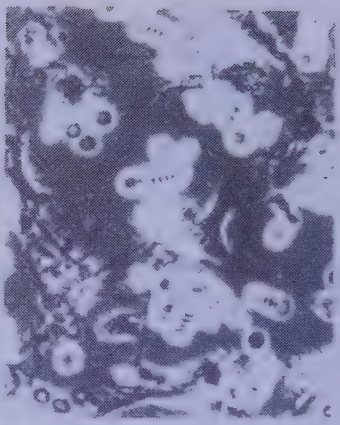


Abb. 34

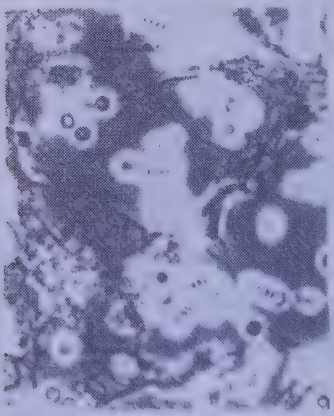


Abb. 35

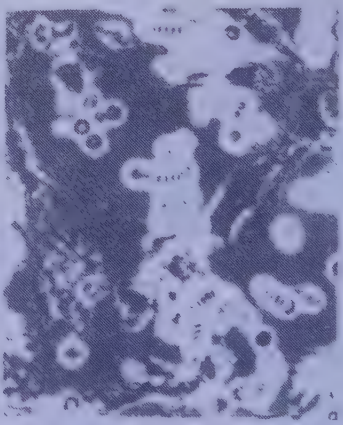


Abb. 36

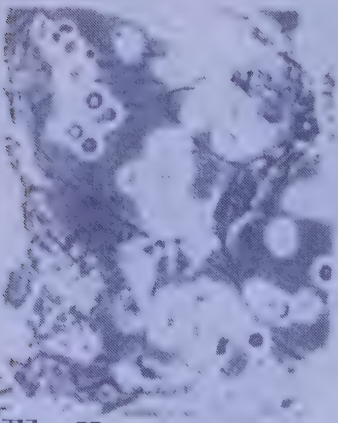


Abb. 37

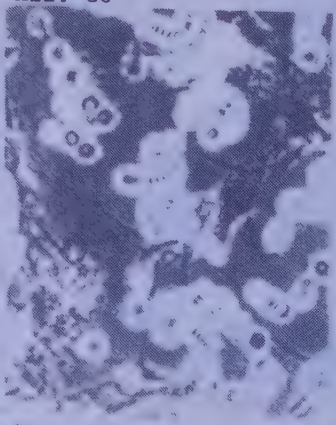


Abb. 38

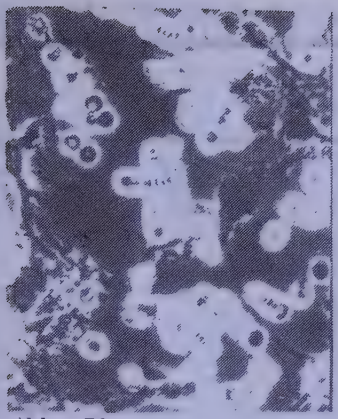


Abb. 39

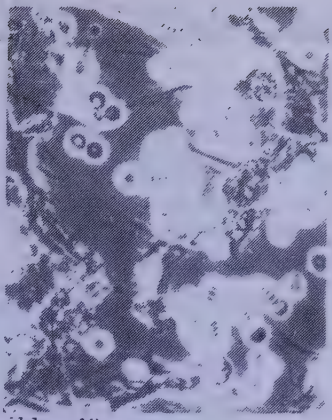


Abb. 40

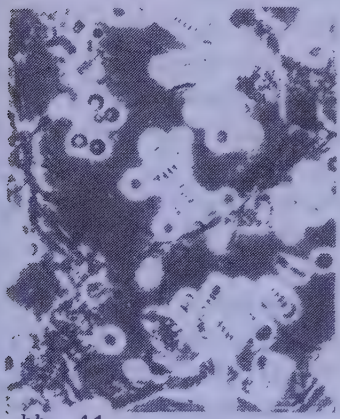


Abb. 41

Abb. 42

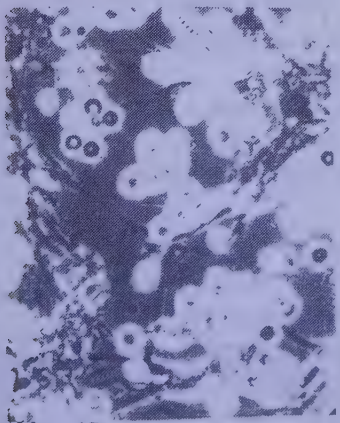


Abb. 43

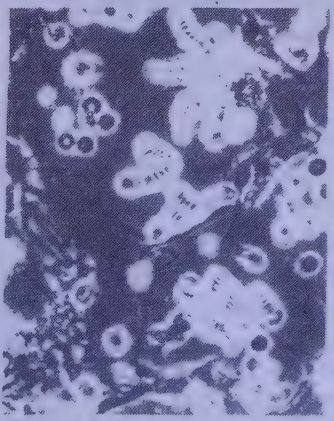


Abb. 44

Diskussion

Obwohl ECCLES (1970 (30)) auf Grund seiner Untersuchungen über intrazelluläre Vorgänge die Zellularpathologie VIRCHOW's bestätigt, indem die Zellen als unabhängige Einheiten angesehen werden, zeigt uns die mikrokinematographische Studie an den beschriebenen Asciteszellen, daß offenbar Carcinomzellen ihre Unabhängigkeit als Einzelindividuum aufgeben können. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen (zit. nach ECCLES) konnten nachweisen, daß auch Zellen, die, durch das Lichtmikroskop betrachtet, ineinander überzugehen scheinen, tatsächlich rundum von einer Membran begrenzt sind. Die Membranen einander berührender Zellen bilden nach den Angaben ECCLES und der von ihm zitierten Biologen LOEWENSTEIN und YOSHINOBU KANNO keine Barriere z. B. für einen fließenden elektrischen Strom. Die Aufhebung der Membranbarriere ist beschränkt auf Zellen, die dem gleichen Gewebe angehören. Abhängig ist die Permeabilität gleicher Zellen von dem sogenannten Calcium-Schloß.
Die Calciumkonzentration in und außerhalb der Zelle führt bei einem Gefälle zur Permeabilität der Membranen. Bei gleicher Calciumkonzentration nimmt die Permeabilität ab. Auch recht große Moleküle können die von der Calciumkonzentration abhängige offene Membran passieren. Ebenso die Stoffe, die genetische Prozesse steuern und damit das Wachstum und die Teilung der Zelle kontrollieren.
E. S. LENNOX und Mitarbeiter (zit. nach ECCLES) wiesen nach, daß embryonale Zellen vieler Tierarten intensive Verbindungen während ihres Wachstums untereinander aufrechterhalten.
Krebszellen werden nicht durch solche Kommunikation nach Ansicht von ECCLES reguliert. Auf Grund experimenteller Befunde ist man der Ansicht, daß sich die Zellmembran von Krebszellen im Gegensatz zu der von

normalen Zellen gegen alle regulierenden Einflüsse verschließt.
Diese Theorie steht im Gegensatz zu der eigenen Beobachtung, bei der ein direkter Kontakt mit Austausch von Cytoplasma festgestellt wurde. Andererseits stellte man in den recht zahlreichen mikrokinematographischen Untersuchungen an malignen Asciteszellen diese Erscheinung nicht fest, d. h. der beobachtete Austausch des Cytoplasmas von Krebszelle zu Krebszelle wird ebensowenig eine Allgemeingültigkeit für alle Carcinome haben wie die von LOEWENSTEIN, ECCLES et al. beschriebene interzelluläre Kontaktschwäche der Krebszellen.

Abschließend schränkt ECCLES in seiner Arbeit die Allgemeingültigkeit seiner Theorie ebenfalls ein, indem er anführt, daß der sogenannte Permeabilitätsfaktor nicht in allen Carcinomformen eine Rolle spielt. Er sieht das für einen weiteren Beleg an, daß es mehrere Ursachen für das ungestörte Wachstum eines Tumors gibt: Entweder werden die zellulären und interzellulären Kontrollsubstanzen nicht mehr produziert, oder sie können nicht mehr von einer Zelle auf die andere übertragen werden.
Das eigene mikrokinematographische Untersuchungsergebnis kann diese Ansicht nur untermauern.

2. Über amöboide Zellen in soliden Tumoren, die Peri- und Emperipolesis.

Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Wanderzellen steht eine Beobachtung, die wir in der Kultur eines Ovarial-Carcinoms machten. Es handelt sich um ein kleines zellähnliches Gebilde, das etwa die Größe eines Leukozyten hat, sich eindeutig sichtbar im Protoplasma der Krebszelle befindet und sich dort hin- und herbewegt. Der Vorgang wurde 13 Stunden lang verfolgt und gefilmt, bis dieses amöboide Gebilde die Ovarial-Carcinomzelle verließ. Es läßt sich mikrokinematographisch dokumentieren, daß sich die amöboide Zelle in der Carcinomzelle befindet. Das Protoplasma weicht hinter dem sich fortbewegenden Zelleinschluß auseinander und hinterläßt eine optisch erkennbare Lücke.
Durch die Trägheit des Cytoplasmas schließt diese sich langsamer als sich der Zelleinschluß fortbewegt (Abb. 15 - 57).

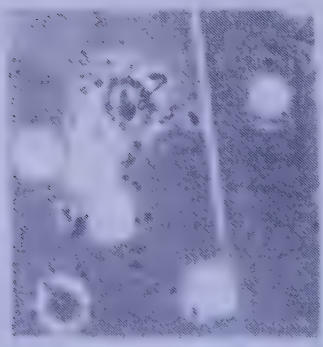


Abb. 45

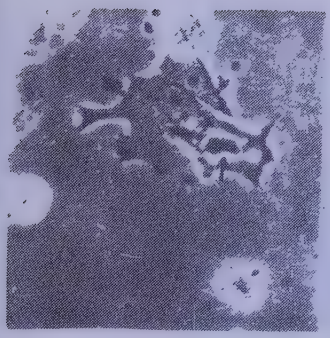


Abb. 46

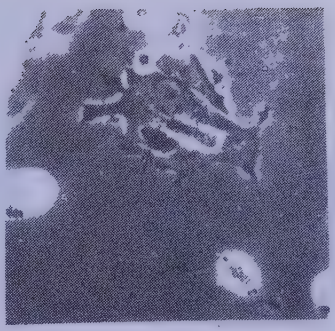


Abb. 47

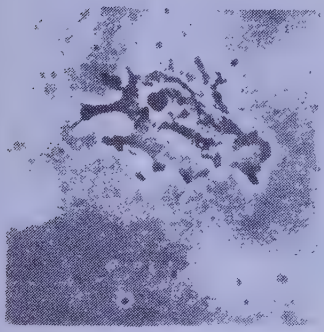


Abb. 48

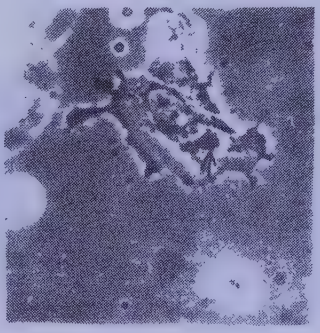


Abb. 49

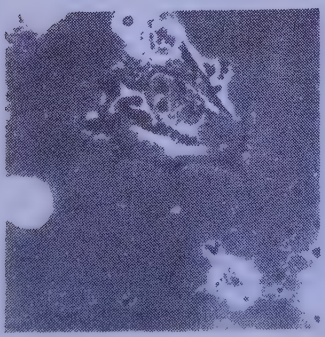


Abb. 50

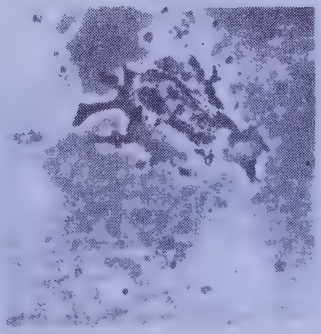


Abb. 51

Emperipolesis in einer Ovarial-Carcinomzelle.
Die amöboide Zelle verläßt die Ovarial-Carcinomzelle.

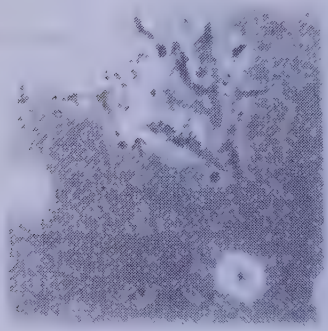


Abb. 52

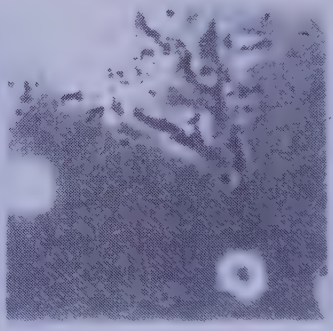


Abb. 53

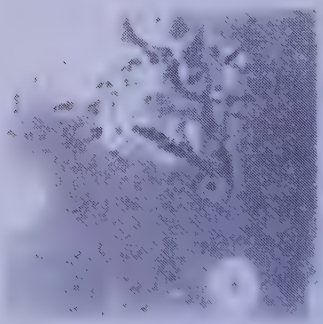


Abb. 54

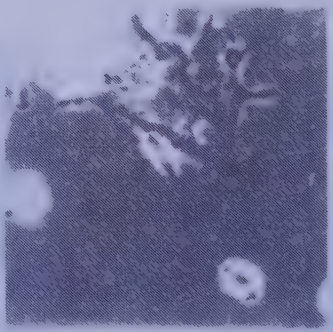


Abb. 55

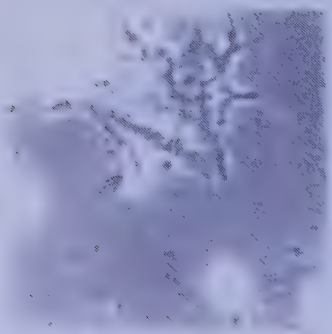


Abb. 56

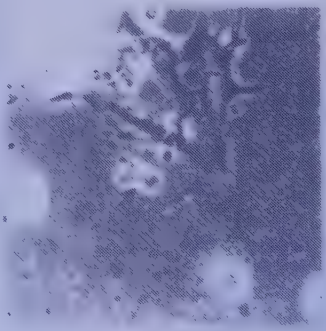


Abb. 57

An Zellen eines unreifzelligen Plattenepithel-Carcinoms der Portio uteri wurde anläßlich einer mikrokinematographischen Untersuchung durch KRÄHE (23) ein ähnliches oder gleiches Phänomen beobachtet. Auch diese Gebilde bewegten sich im Protoplasma der Zelle, was nicht nur das Auseinanderklaffen des Protoplasmas beweist, sondern auch die ständige morphologische Veränderung dieser Elemente, indem sie zeitweilig mehr oder weniger rund, dann wieder bohnenförmig und sogar mit Protuberantien erscheinen (Abb. 58 - 60).

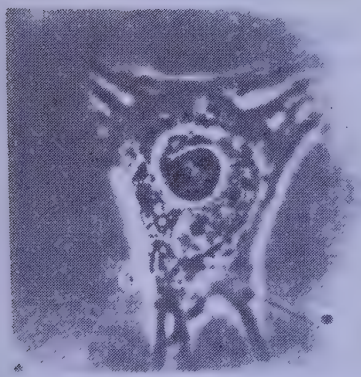


Abb. 58

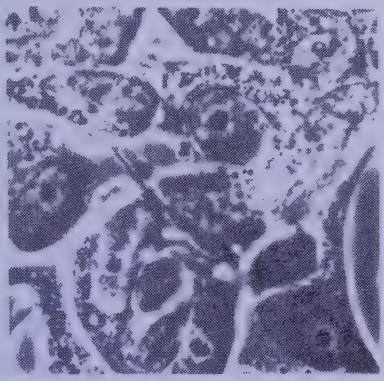


Abb. 59

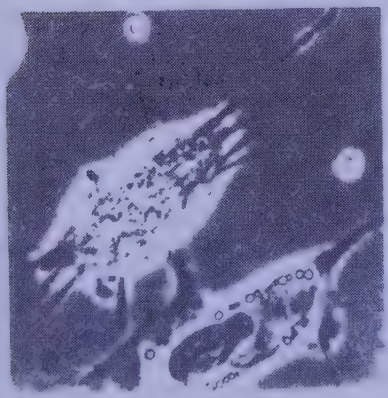


Abb. 60

Diskussion

Von ALBERTINI (24) beschrieb 1948, daß freischwimmende Zellkerne, Zellen mit bizarren Protoplasmaausläufern und mehrkernige Zellen mit relativ großen Nukleolen in Krebsgeweben auftreten. Er führte seine Untersuchungen an Nativausstrichen aus Tumorgewebe durch. Diese Befunde wurden auch in der Gewebekultur von GLATTHAAR (25) bestätigt. HUMBLE, JAYNE und PULVERTAFT (26) berichteten über Lymphozyten, die sich in Megakaryozyten und Vakuolen von Carcinomzellen aufhalten. Dieses Phänomen wird als Emperipolesis bezeichnet. Im Gegensatz dazu steht die Peripolesis, die lediglich das Herumkreisen um andere Zellen und Kontaktsuchen mit diesen bezeichnet.

Obwohl bei der in der Ovarial-Carcinomzelle beobachteten Emperipolesis kein Kern in der eingedrungenen Zelle nachweisbar war, muß angenommen werden, daß es sich um einen Lymphozyten handelt. Insbesondere spricht die Größe dieser Zelle dafür.

Im zweiten Fall einer Emperipolesis erkannte man in der Portio-Carcinomzelle zwei Einschlüsse, die sich amöboid fortbewegten und durch die geringe Veränderung ihrer Form eher an Zellkerne erinnerten. Leider konnte der Austritt dieser Einschlüsse nicht beobachtet werden.

Dem Aufenthalt anderer Zellen im Protoplasma von Carcinomzellen kann wohl keine spezifische Bedeutung zukommen, da HUMBLE, JAYNE und PULVERTAFT (26) die Emperipolesis als eine besondere Eigenschaft der Lymphozyten ansehen. Allerdings konnten wir dieses Phänomen bei

mikrokinematographischen Untersuchungen von benignem Gewebe nicht beobachten.

Ein eingehenderes Studium sollte klären, ob es sich hierbei nur um die zufällige Beobachtung eines bedeutungslosen Vorganges handelt oder ob die Krebszellen gegenüber Lymphozyten oder noch näher zu bestimmenden amöboiden Zellelementen eine Resistenzschwäche besitzen.

3. Beobachtung der Sekretion des myxomatösen Materials in einem medullären Ovarial-Carcinom mit myxomatösem Stroma.

a) Einleitung

Außer der Schutzfunktion hat das Epithel die Fähigkeit zur Sekretion von Stoffen mittels hierzu spezialisierten Zellen, den sogenannten Drüsenzellen. Die Sekretion kann an einzelne Zellen gebunden sein, z. B. Becher- oder Schleimzellen. Wenn ein ganzer Epithelverband sezerniert, zieht sich das Drüsenepithelgewebe unter das Epithel zurück mit dem dazugehörigen Bindegewebe als ein konstruktives Bauelement. Bleibt die Drüse mit ihrem Mutterboden durch einen Ausführungsgang verbunden, dann wird sie zu den exokrinen Drüsen mit äußerer Sekretion gerechnet. Fehlt die Verbindung, so bildet sie einen ins Körperinnere verlagerten Epithelbezirk, der sein Sekret zwischen den Drüsenzellen hindurch an Venen und Lymphgefäße der Nachbarschaft abgibt. Dann sprechen wir von endokrinen Drüsen mit innerer Sekretion. Endokrine Drüsen treten in Form eigener Organe auf (Schilddrüse, Hypophyse, Nebennieren u. a.) oder sind in andere exokrine Drüsen eingebaut

(z. B. Teile der Keimdrüsen, Inselorgan der Bauchspeicheldrüse).
Den verschiedenen Aufgaben der exokrinen Drüsen sind auch sehr verschiedene Formen angepaßt. Die Einzeldrüsen treten tubulös (Dickdarm, Schweißdrüsen), acinös und alveolär (Talgdrüsen), tubulo-alveolär und tubulo-acinös (Speicheldrüsen) auf.
Ferner unterscheidet man verzweigte Drüsen wie die Cardiadrüsen (tubulös), die Meibom'schen Drüsen (alveolär-acinös) und die Speicheldrüsen (tubulo-alveolär, tubulo-acinös). In dem Drüsenkörper zusammengesetzter Drüsen, die makroskopisch die Form solider Organe haben, sind größere und kleinere komplexe festzustellen (VOSS und HERRLINGER (27)).

Aus den Stoffen, die der Drüse durch den Blut- oder Lymphstrom zugeführt werden, entsteht das Sekret. Nach Art der Sekretion kann man die Drüsen in zwei Gruppen einteilen, in die merokrinen und in die holokrinen Drüsen.
Die merokrinen Drüsen werden nach SCHLEFFER-DECKER (28) unterteilt in den ekkrinen und den apokrinen Typ. Beim ekkrinen Typ presst die Drüsenzelle Flüssigkeit aus, die in der Zelle gebildet wird oder sie stößt Protoplasmakörnchen aus, die sich erst außerhalb der Zelle in Sekret auflösen. Der apokrine Drüsenzelltyp, zu dem z. B. die Schweiß- und Mamillardrüsen gehören, gibt als Sekret Cytoplasmateile ab.
Die beschriebenen Zellfunktionen können beliebig oft sich wiederholen, ohne daß die Zelle selbst dadurch Schaden erleidet.

Bei den holokrinen Drüsen wird die ganze Zelle in Sekret verwandelt und geht dabei zugrunde.

b) Eigenbeobachtung der Sekretion von schleimbildenden Drüsen eines medullären Ovarial-Carcinoms mit myxomatösem Stroma

Mit der mikrokinematographischen Dokumentation wurde drei Stunden nach der Explantation begonnen. Es fanden sich zunächst solitär liegende Zellen, die völlig abgerundet waren. Etwa nach drei Stunden ließen sich zwei Zelltypen unterscheiden:

1. Zellen, die besonders viele protoplasmatische Einschlüsse enthielten und
2. Zellen, die im Protoplasma eine homogene, stärker lichtbrechende, scharf begrenzte Masse enthielten.

Zu 1.: Im Verlaufe von drei bis vier Stunden zeichneten sich die Zellen mit den stark vermehrten protoplasmatischen Einschlüssen durch eine starke intrazelluläre Bewegungsaktivität aus. Gleichzeitig kam es zu einer erheblichen Größenzunahme dieser Zellen. Plötzlich verkleinerten sich die Zellen und zunächst entstand der Eindruck, daß im wesentlichen nur der Zellkern übrig blieb. Nach einiger Zeit bildete sich in diesem Zellrest wieder Protoplasma, das offensichtlich gröbere Granula enthielt. Zwei Stunden später ließ sich in dem etwas vermehrten Protoplasmarand erneut eine verstärkte Bewegungsaktivität der protoplasmatischen Einschlüsse erkennen. Gleichzeitig trat erneut eine erhebliche Größenzunahme der Zellen auf, bis es schließlich wieder zu einem Substanzverlust plötzlich kam. Im Medium der Kultur-

kammer schwammen nach diesen beobachteten Vorgängen kleine, vorwiegend runde, bakterienähnliche Gebilde, so daß wir zunächst an eine fortschreitende bakterielle Verunreinigung der Kultur dachten. Erst die Vorführung des entwickelten Filmes klärte die Herkunft der bakterienähnlichen Gebilde auf. Der Film gestattete eindeutig die Identifizierung dieser Gebilde, indem sich bei jeder Verkleinerung der Zellen eine Ausstoßung der protoplasmatischen Elemente in einem Schwall oder Schwarm darstellte (Abb. 61 - 63).

Zu 2.: Der beschriebene zweite Zelltyp enthielt nur wenige erkennbare protoplasmatische Einschlüsse. In rhythmischen Abständen schwoll der cytoplasmatische Zellanteil an. Auch der Zellkern nahm an Größe zu, so daß sich die Zellen luftballonartig aufblähten. In gewissen zeitlichen Abständen entleerte sich das Protoplasma. Diese Vorgänge traten nicht synchron mit der Ausstoßung der protoplasmatischen Elemente der ersten Zellform auf, sondern ereigneten sich vorwiegend in der Wachstumsphase der zuerst angeführten Zellen. Der protoplasmatische Zellinhalt stieß sich vorwiegend in Tropfenform ab, soweit sich der Vorgang in der optisch zu beobachtenden Ebene abspielte. Danach floß der Tropfen schlierenartig auseinander, so daß der Eindruck einer aktiven Bewegung dieser Masse entstand. Die beschriebenen Vorgänge konnten mehrmals nacheinander im Verlauf von 15 Stunden beobachtet werden (Abb. 64 - 67).

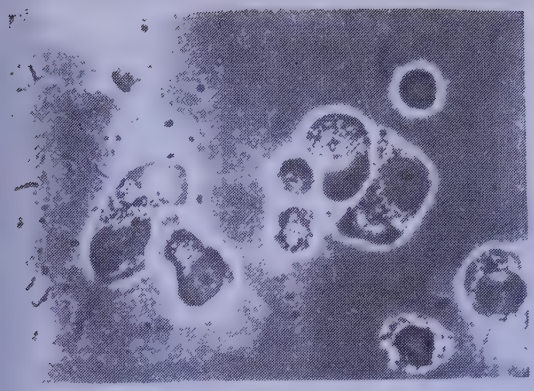


Abb. 61
Die aufgeblähten Zellen vor dem Herausschleudern ihrer protoplasmatischen Einschlüsse

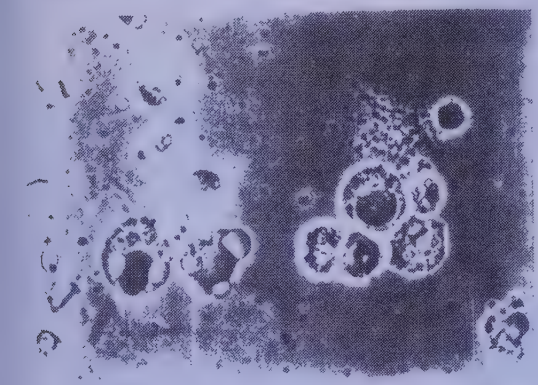


Abb. 62 und 63
Die Zelle während der Eruption

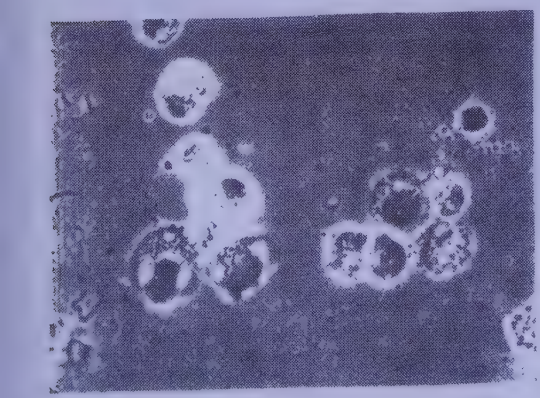


Abb. 63

Im zweiten Zelltyp erschienen weniger protoplasmatische Einschlüsse. Das Protoplasma vermehrte sich, der Kern nahm an Volumen zu und in gewissen zeitlichen Intervallen wurde tropfenweise aus dem Protoplasma eine Substanz ausgeschieden (Abb. 64 - 67).

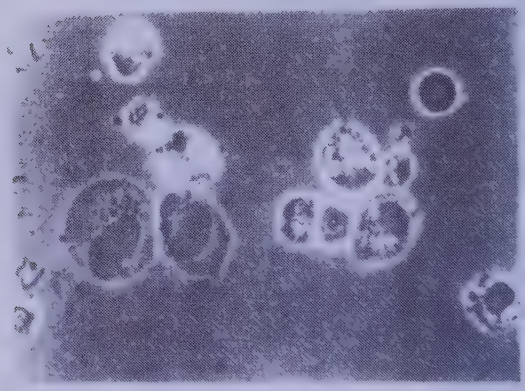


Abb. 64

Abb. 65

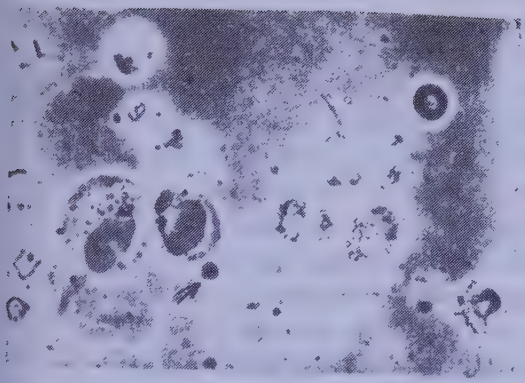


Abb. 66

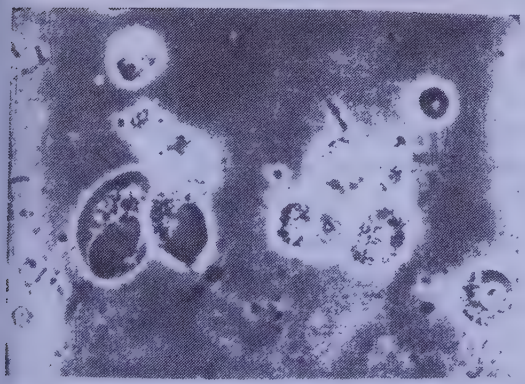


Abb. 67

Diskussion

Aus den beiden beschriebenen Funktionen darf gefolgert werden, daß sich in dem Tumor zwei verschiedene Anteile drüsiger Zellen finden.
Die Granula ausstoßenden Zellen zeigen wohl die Funktion der ekkrinen Drüsen, während es sich bei der Abstoßung cytoplasmatischer Anteile um den Arbeitsvorgang in den apokrinen Drüsenzellen handelt. Die myxomatösen Anteile der Tumoren zeichnen sich durch gallertartige Anteile aus, bei denen es sich chemisch um Mucopolysaccharide handelt. Man darf bei dem zweiten beschriebenen Zelltyp annehmen, daß Gallertmasse gebildet und ausgestoßen wird. Der eindeutige Nachweis durch cytochemische Untersuchungen konnte leider nicht erbracht werden, da sich diese Zellfunktion erst im entwickelten Film darstellte und die Kultur zu diesem Zeitpunkt bereits abgestorben war.
Die geschilderten Beobachtungen dokumentieren eindeutig die Entstehung und den Ursprung des myxomatösen Materials.

Es wird immer wieder der Einwand erhoben, daß die Zellen, die explantiert werden, ihren Charakter ändern und mit dem Ursprungsgewebe nichts mehr gemein haben. Zum Beispiel führen die Gegner des von LIMBURG und KRAHE (29) entwickelten Krebs-Chemotherapie-Resistenztestes diesen Einwand an und glauben deshalb nicht, daß eine Parallele zwischen dem Ergebnis der Krebs-Chemotherapeutika in vitro gegenüber der Wirkung bei der klinischen Anwendung zu ziehen ist. Der Nachweis der ursprünglichen Funktion nach der Explantation in vitro erscheint somit besonders

wertvoll. Neben diesen beobachteten Phänomenen sprechen auch andere Untersuchungsergebnisse durch Anwendung der Transplantation von Kulturen, Bestimmung von Chromosomen und des Enzymmusters der Zellen, zumindest für einige Wochen, für die Identität des Explantates mit seinem Ursprungsgewebe.

Unklar bleibt die Funktion des Zelltyps, der an die ekkrine Art der Sekretbildung erinnert, indem diese Zellen Granula aus dem Cytoplasma ausstossen. Auch hier sollten weitere Bemühungen mit Hilfe der Mikrokinematographie und einer Erweiterung der Untersuchungsmethodik durch Heranziehung der Vitalfärbung und Histochemie Klarheit über den Ursprung dieses Zelltyps verschaffen. Durch histochemische Vergleichsuntersuchungen des histologischen Schnittes mit cytochemischen Untersuchungen an der gefärbten Kultur müßte es möglich sein, über den Ursprung der zwei Zelltypen, die zuvor beschrieben wurden, Aufschluß zu erhalten. Die großen, zuerst beschriebenen, aufgeblähten Zellen erinnern an degenerative Veränderungen von explantierten Zellen allgemein. Nach längerer Kultivierung unter schlechten Lebensbedingungen ist das Auftreten eines hydrophischen Kernes und das Aufquellen von Cytoplasma hinreichend bekannt. Bei den beobachteten Vorgängen muß es sich jedoch um eine sekretorische Funktion handeln. Es erfolgt zwar ein Substanzverlust und eine Verkleinerung der Zellen, jedoch spricht die Reversibilität des Vorganges und das weitere Überleben der Zellen über einen Zeitraum von mindestens 72 Stunden eindeutig für die Beobachtung der Funktion einer lebenden, funktionstüchtigen Zelle.

ZUSAMMENFASSUNG

Insgesamt eigneten sich 8 Explantate von 13 Ansätzen zur mikrokinematographischen Untersuchung.
Bei den 8 verwendbaren Kulturen handelte es sich in sechs Fällen um Ascites-Carcinomzellen, in einem Fall um Zellen eines soliden Ovarial-Carcinoms und im letzten Fall um ein medulläres Ovarial-Carcinom mit myxomatösem Stroma.
Folgende Ergebnisse der mikrokinematographischen Studie wurden ermittelt:

1. Beim Vergleich der Bewegungsaktivität der einzelnen Ascitesexplantate ergab sich in den beobachteten Fällen keine Abhängigkeit der Bewegungsaktivität der Zellen von der histopathologischen Diagnose des soliden Malignomanteiles.
   Alle Ascitesformen zeigten unterschiedliche Bewegungsaktivitäten, die nicht in Beziehung zu der histopathologischen Diagnose standen.

2. In fünf Fällen beobachtete man zwar einen engen Kontakt der amöboiden Zellen miteinander, man sah auch stundenlang kleinere amöboide Zellen auf Carcinomzellen herumwandern, jedoch blieb der Zellindividualismus immer gewahrt.

3. In der sechsten Asciteskultur, deren histologische Diagnose: Metastasierendes papilläres Adeno-Carcinom lautete, konnte ein synzytialer Zusammenhang der Zellen zumindest zeitweise mikrokinematographisch bewiesen werden. Auch der Austausch von Zellbestandteilen wurde beobachtet.
   Darüberhinaus ließ das genaue Studium der Einzelbilder des Filmes erkennen, daß sich aus einer großen Zelle ein kleines Zellindividuum abschnürte, das danach frei wie die anderen kleinen amöboiden Zellen in der Kultur herumwanderte. Auf die Bedeutung dieser besonderen Vermehrungsform von Zellen im Ascites wird hingewiesen.

4. Der enge Kontakt, den Zellen miteinander haben können, war bereits von den Beobachtungen der Ascites-Carcinomzellen her bekannt. In einer Ovarial-Carcinomzelle, die einem soliden Ovarial-Carcinom entstammte, ließ sich im Cytoplasma eine kleine amöboide Zelle beobachten, die sich 13 Stunden lang dort hin und her bewegte, eine Zellteilung der Wirtszelle miterlebte und danach den Wirtsorganismus verließ. Die Bedeutung dieses Vorganges wird diskutiert. Der Vorgang selbst wurde auch von BOLL, KRAHE u. a. bereits beschrieben und ist unter dem Begriff Peri- und Emperipolesis bekannt.
Zur Deutung dieser Beobachtung und einer eventuellen spezifischen Bedeutung für Carcinomzellen sind weitere Untersuchungen erforderlich.
In zahlreichen mikrokinematographischen Studien an Zellen, die normalem Gewebe entstammten, konnte dieser Vorgang jedenfalls nie beobachtet werden.

5. Im Explantat eines medullären Ovarial-Carcinoms mit myxomatösem Stroma ließen sich zwei Zelltypen mit verschiedener Sekretionsfunktion nachweisen.
In dem einen Fall schnürte sich aus der aufgeblähten Zelle Cytoplasma ab, das sich schleimig, schlierig in der Kulturkammer verlor.
Der andere Zelltyp stieß explosionsartig körnige Granula aus, nachdem die Zelle an Volumen und an Granulainhalt erheblich zugenommen hatte. Dieser Vorgang ist bekannt von den ekkrinen Schweißdrüsen.
Beide Sekretionsformen in dem medullären Ovarial-Carcinom mit myxomatösem Stroma werden diskutiert.

Eine genaue Zuordnung der verschiedenen Sekretionstypen zu bestimmten Bestandteilen des Ursprungs-

gewebes war leider nicht möglich, weil die cytochemische Untersuchung des beobachteten Explantates unterblieb. Die Vorgänge selbst ließen sich erst bei der Vorführung des entwickelten Filmes nachweisen zu einem Zeitpunkt, an dem die Kultur nicht mehr verwertbar war.
Die Diskussion der Ergebnisse wird durch das Fehlen der cytochemischen Befunde eingeschränkt. Auf das als Degenerationserscheinung bekannte hydrophische Cytoplasma, das sich vor dem Untergang der Zellen ebenfalls erheblich aufbläht, wird hingewiesen.
Die Reversibilität der beobachteten Vorgänge mehrmals innerhalb von 15 Stunden beweist die Intaktheit der lebenden Zelle und die Intaktheit ihrer Funktion.

Als Besonderheiten der Krebszellen dürfen den vorliegenden mikrokinematographischen Untersuchungen nach angesehen oder diskutiert werden:

1. Die Ausbildung eines Syncytiums in bestimmten Formen von carcinomatösem Ascites,
2. die Möglichkeit einer amitotischen Zellvermehrung,
3. die Emperi- und Peripolesis in Malignomzellen,
4. das Vorhandensein zweier verschiedener Zelltypen mit Sekretion in einem medullären Ovarial-Carcinom mit myxomatösem Stroma.

Weitere mikrokinematographische Studien an Primärexplantaten menschlicher Carcinome erscheinen angesichts dieser Ergebnisse hoffnungsvoll für die Entdeckung von Besonderheiten der verschiedenen Malignomzelltypen.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. KIDD, J. G. : Regression of transplanted lymphomas induced in vivo by means of normal guinea pig serum. J. exp. Med. 98, 565 - 581 (1953).

2. De BARROS, T., CUNHA FILHO, M., FERREIRA De SANTANA, C., VALENCA, M., PEREIRA Da SILVA, GUEDES, J. and De CARVALHO, A. A. L.: Utilizacao de L-asparaginase em paciente humano portador de neoplasia maligna. An. Fac. Med. Univ. Recife 25, 21 - 28 (1965).

3. BROOME, J. D. : Evidence that the L-asparaginase of Guinea pig serum is responsible for its anti-lymphoma effects. Nature (Lond.) 191, 4793, 1114 - 1115 (1961).

4. DULBECCO, R., VOGT, M.: Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses. J. exp. Med. 99, 167 - 182 (1954).

5. KAMIYA, N. : Motilität des Plasmas. In: Die Zelle, Struktur und Funktion, hrsg. von METZNER, H., Wissenschaftl. Verlagsges. m. b. H., Stuttgart 1966, 329 - 353.

6. KÜHNE, W. : Untersuchungen über das Protoplasma und die Contractilität. Leipzig 1864.

7. JENNINGS, H. S. : Contributions to the study of the behavior of lower organisms. Washington 1904.

8. KRÜMBLER, L. : Zur Theorie der Oberflächenkräfte der Amöben. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 83 (1905).

9. SEIFRIZ, W. : Die Protoplasmabewegung, ihre Haupttypen, ihre experimentelle Beeinflussung und ihre theoretische Erklärung. In: Energieumsatz, erster Teil, hrsg. von ALVERDES, F. et al., J. Springer-Verlag Berlin, 1925, 1 - 30.

10. SIMARD-DUQUESNE, N. and COULLARD, I.: Ameboid movement. Exp. Cell Research 28, 85 - 91, 92 - 98 (1962).

11. TAMIYA, N. : The motive force of endoplasmic streaming in the ameba. Primitive Motile Systems in Cell Biology 257 - 277. Academic Press, New York 1964.

12. BETTEX-GALAND, M. and LUSCHER, E. F.: Thrombosthenin, the contractile protein from blood platelets and its relation to other contractile proteins. Adv. in Protein Chem. 20, 1 - 35 (1965).

13. NAKAJIMA, H. : Some properties of a contractile protein in a myxomycete plasmodium. Protoplasma 52, 413 - 436 (1960).

14. HOFFMANN-BERLING, H. : Über die verschiedenen molekularen Mechanismen der Bewegungen von Zellen. Ergebn. der Physiol. 51, 98 - 150 (1961).

15. ROSENOW, E. : Die Untersuchung der allgemeinen Zellmorphologie und spezieller hämatologischer Strukturen mit dem Fluoreszenz- und Phasenkontrastverfahren im Vergleich zu den Ergebnissen der Licht- und Dunkelfeldmikroskopie. In: Lebende Blutzellen im Fluoreszenz- und Phasenkontrastmikroskop, S. Karger, Basel, New York 1956, 182 - 195.

16. HIRSCHFELD, H. und MOLDAWSKY, J.: Die Methoden der supravitalen Färbung des Blutes. In Handb. d. allg. Hämat., hrsg. von HIRSCHFELD und HITTMAIR, Bd. II/1, 95. Urban & Schwarzenberg, Berlin/Wien 1933.

17. DELAUNAY, A. : Ann. Inst. Pasteur 70, 374 (1944).

18. ROBINEAUX, R. : Sang 21, 791 (1950).

19. DELAUNAY, A., ROBINEAUX, R. et LEBRUN, J.: Rev. Immunol. 14, 262 (1950).

20. GAUER, B. : Zelldissoziation und -aggregation in der Embryonalentwicklung. In: Die Zelle, Struktur und Funktion,

hrsg. von METZNER, H.,
Wissenschaftl. Verlagsges.
m. b. H.,
Stuttgart 1966, 170 - 186.

21. BOLL, I. : Sekretionsvorgänge an malignen Mesothelien.
Phasenkontrast-kinematographische Studien humaner Zellen in vitro. Z. Zellforsch. 82, 239 - 256 (1967) und persönl. Mitteilung.

22. ARNOLD, J. : Über die Theilungsvorgänge an den Wanderzellen, ihre progressiven und retrogressiven Metamorphosen.
Arch. mikr. Anat. 30, 205 (1887).

23. KRÄHE, M. : Über das Verhalten von benigne und malignen Zellen des weiblichen Genitales in der Gewebekultur (zugleich ein Versuch der Sensibilitätstestung von menschlichem Karzinomgewebe in der Primärkultur gegen Zytostatika). Habilitationsschrift 1963, Universität des Saarlandes.

24. v. ALBERTINI, A. : Über die Bedeutung der Dissoziationserscheinungen in Krebszellen.
Schweiz. Med. Wschr. 717 - 720 (1948).

25. GLATTHAAR, E. : Über die Versuche zur cytologischen Differenzierung des atypischen Portioepithels mit Hi

von Gewebezüchtung und Phasenkontrastmikroskopie.
Schweiz. Med. Wschr. 78, 720 - 724 (1947).

26. HUMBLE, J. G., JAYNE, W. H. W. and PULVERTAFT, R. J. V.: Biological interaction between lymphocytes and other cells.
Brit. J. Haemat. 2, 283 - 294 (1956).

27. VOSS, H., HERRLINGER, R.: Taschenbuch der Anatomie, Bd. II, 5 - 8, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart 1962.

28. SCHIEFFERDECKER : Lit. zit. nach ROHRBACH-STUMPKE: Die Hautkrankheiten, Theodor Steinkopff-Verlag, Dresden und Leipzig 1949, 11 - 12.

29. LIMBURG, H., KRAHE, M.: Die Züchtung von menschlichem Krebsgewebe in der Gewebekultur und seine Sensibilitätstestung gegen neuere Zytostatika.
Dtsch. Med. Wschr. 41, 1938 (1964).

30. ECCLES, J. C. : Dialoge zwischen lebenden Zellen.
Praxis-Kurier 28, 3 + 22 (1970) und Scientific American 222: 5, 78 - 92 (1970).

Herrn Prof. Dr. med. M. Krahe
danke ich für die Überlassung
des Themas sowie den fachlichen
Rat, den er mir bei der Durch-
führung der Arbeit gewährte.

L E B E N S L A U F

Am 27. 2. 1925 wurde ich in Myslowitz (Oberschlesien) als Sohn des Reichsbahnbeamten Peter Figiel und seiner Ehefrau Marie, geb. Major, geboren.
Von 1932 bis 1941 besuchte ich die Volksschule in Myslowitz und war von 1941 bis 1943 als Verwaltungslehrling bei der AOK tätig.
Im Februar 1943 wurde ich zum Reichsarbeitsdienst und anschließend zur Wehrmacht-Ostfront eingezogen.
1947 kehrte ich aus russischer Kriegsgefangenschaft zurück und übernahm die Verwalterstelle im Stadtkrankenhaus Myslowitz. Neben meiner Verwaltertätigkeit besuchte ich die Rosa Luxemburg-Schule in Königshütte und legte 1950 das Abitur ab.
Von 1951 bis 1955 studierte ich Zahnmedizin an der Ludwik Warynski-Hochschule in Hindenburg und erwarb die Bestallung als Zahnarzt.
Von 1956 bis 1963 praktizierte ich bei der Krankenkasse in Myslowitz und studierte gleichzeitig Medizin.
1963 erhielt ich die Bestallung als praktischer Arzt.
Von 1963 bis 1964 war ich als praktischer Arzt und Zahnarzt bei der Krankenkasse in Myslowitz angestellt.
1964 begann ich meine geburtshilflich-gynäkologische Ausbildung am Kreiskrankenhaus Le Brun in Goldberg (Niederschlesien).
Nebenbei wurde ich als Cytologe beim Gesundheitsamt eingestellt.
1968 erhielt ich die Facharztanerkennung für Frauenkrankheiten und Geburtshilfe.
Am 25. Februar 1969 gelang mir die Flucht über England in die Bundesrepublik.
Vom 15. März 1969 an wurde ich als I. Assistent auf der geburtshilflich-gynäkologischen Abteilung des St. Martinus-Krankenhauses in Düsseldorf eingestellt.
Seit dem 19. Dezember 1969 besitze ich die deutsche Bestallung als Arzt und seit dem 24. Februar 1970 die deutsche Facharztanerkennung für Frauenkrankheiten und Geburtshilfe.